

10/533983
PCT/FR 03 / 0 3 3 3 6

Rec'd PCT/PTO 05 MAY 2005

MAILED 26 JAN 2004

WIPO PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 12 NOV. 2003

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 171 a) OUI b)

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr



26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

N° 11354*03

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

page 1/2



BR1

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 510 • R / 21050

| | | | |
|--|--|---|--|
| REMISE DES PIÈCES DATE 8 NOV 2002 LIEU 75 INPI PARIS B N° D'ENREGISTREMENT 0214077 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI - 8 NOV. 2002 | | 1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE CABINET ORES 6, avenue de Messine 75008 PARIS | |
| Vos références pour ce dossier (facultatif) VCCagF1578/2 FR | | | |
| Confirmation d'un dépôt par télécopie | | <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie | |
| 2 NATURE DE LA DEMANDE Demande de brevet Demande de certificat d'utilité Demande divisionnaire <i>Demande de brevet initiale</i> <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i> Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i> | | Cochez l'une des 4 cases suivantes <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> | |
| | | N° _____ Date _____ N° _____ Date _____ N° _____ Date _____ | |
| 3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) NOUVEAUX VECTEURS MOLECULAIRES AMPHIPHILES FLUOROCARBONES A USAGE BIOMEDICAL ET MEDICAL. | | | |
| 4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE | | Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite» | |
| 5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases) | | <input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique | |
| Nom ou dénomination sociale Prénoms Forme juridique N° SIREN Code APE-NAF Domicile ou siège Nationalité N° de téléphone (facultatif) Adresse électronique (facultatif) | | SALLES Jean-Pierre agissant au nom et pour le compte de la Société dénommée TS PHARMA, Société en cours de formation. _____ _____ 830 Chemin de Vergon [1 3 5 1 0] EGUILLES FRANCE Française N° de télécopie (facultatif) _____ | |
| | | <input checked="" type="checkbox"/> S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite» | |

Remplir impérativement la 2^{ème} page

| | | | |
|--|--|---|-------------------|
| REMISE DES PIÈCES DATE 6 NOV 2002 LIEU 75 INPI PARIS B N° D'ENREGISTREMENT 0214077 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI | | Réservé à l'INPI | DB 540 W / 210502 |
| 6 MANDATAIRE (s'il y a lieu) Nom Prénom Cabinet ou Société N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel Adresse Rue Code postal et ville Pays N° de téléphone (facultatif) N° de télécopie (facultatif) Adresse électronique (facultatif) | | ORES Béatrice CABINET ORES 6, avenue de Messine 75 008 PARIS FRANCE 01 45 62 75 00 - 01 45 62 69 99 01 45 62 04 86 - 01 45 62 04 87 ores@cabinet-ores.com | |
| 7 INVENTEUR (S) Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes | | Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s) | |
| 8 RAPPORT DE RECHERCHE Établissement immédiat ou établissement différé | | Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation) <input checked="" type="checkbox"/> | |
| Paiement échelonné de la redevance (en deux versements) | | Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non | |
| 9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES | | Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence): AG | |
| 10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS Le support électronique de données est joint La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe | | <input type="checkbox"/> Cochez la case si la description contient une liste de séquences <input type="checkbox"/> | |
| Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes | | | |
| 11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) Béatrice ORES N° 92-4046 | | VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI   | |



26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

**BREVET D'INVENTION
CERTIFICAT D'UTILITÉ**
Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11354*03

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

Page suite N° 1.../1...



| | | | |
|--|----------------------|---|--|
| REMISE DES PIÈCES DATE 05 NOV 2002 LIEU 75 INPI PARIS B N° D'ENREGISTREMENT 0214077 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI | | Réservé à l'INPI | |
| Vos références pour ce dossier (facultatif) | | VCcagF1578/2 FR | |
| <input checked="" type="checkbox"/> DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE | | Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ | |
| <input checked="" type="checkbox"/> DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases) | | <input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique | |
| Nom ou dénomination sociale | | UNIVERSITE D'AVIGNON ET DES PAYS DU VAUCLUSE | |
| Prénoms | | | |
| Forme juridique | | | |
| N° SIREN | | | |
| Code APE-NAF | | | |
| Domicile ou siège | Rue | 74, rue Louis Pasteur | |
| | Code postal et ville | 18 4 0 2 9 AVIGNON CEDEX 1 | |
| | Pays | FRANCE | |
| Nationalité | | Française | |
| N° de téléphone (facultatif) | | | |
| N° de télécopie (facultatif) | | | |
| Adresse électronique (facultatif) | | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases) | | <input type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique | |
| Nom ou dénomination sociale | | | |
| Prénoms | | | |
| Forme juridique | | | |
| N° SIREN | | | |
| Code APE-NAF | | | |
| Domicile ou siège | Rue | | |
| | Code postal et ville | | |
| | Pays | | |
| Nationalité | | | |
| N° de téléphone (facultatif) | | | |
| N° de télécopie (facultatif) | | | |
| Adresse électronique (facultatif) | | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) | | Béatrice ORES N° 92-4046 | |
| | | VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI | |

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire.
Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI

L'invention a pour objet de nouvelles molécules susceptibles d'être utilisées comme vecteur de principes actifs, des molécules actives comportant un tel vecteur et leur utilisation dans le domaine de la pharmacie, notamment pour la préparation de médicaments.

5 Les recherches actuelles sur la vectorisation des principes actifs tendent à améliorer de façon notable non seulement le confort du malade en privilégiant les voies d'administration les moins traumatisantes mais également l'efficacité globale d'un médicament en lui conférant une affinité cellulaire qui leur fait généralement défaut et qui est souvent responsable d'effets secondaires indésirables. Au concept classique d'activité
10 thérapeutique se surajoute donc celui de la spécificité d'action qui module en fait la biodisponibilité du substrat.

En pratique, par exemple dans un domaine sensible tel que celui de la chimiothérapie anticancéreuse, les progrès observés ces dernières années (nouvelles drogues, nouvelles modalités d'administration, chimio-prédictivité *in vitro* ou *in vivo*,
15 intégration dans de nouveaux schémas thérapeutiques...) permettent de penser que la qualité de la chimiothérapie va continuer à progresser si elle peut désormais se doter de nouveaux outils basés sur de nouveaux concepts de transport et de ciblage cellulaire des agents anticancéreux. Afin d'augmenter l'efficacité et la dose effective de principe actif qui sera acheminée vers le site cancéreux, il paraît en effet nécessaire d'apporter une réelle
20 spécificité à ces médicaments et de réduire leurs effets secondaires.

Or, la structure chimique d'un médicament conditionne à la fois ses propriétés physico-chimiques et son activité biologique et notamment son affinité pour les récepteurs membranaires. Moduler ce devenir par des modifications de la structure moléculaire risque d'altérer les propriétés pharmaceutiques. On est donc amené à traiter le
25 produit sur le plan "galénique", c'est à dire à s'intéresser à la forme pharmaceutique utilisée pour son administration, ou mieux de l'encapsuler dans des structures hôtes ou le greffer sur des molécules aptes à assurer cette vectorisation.

La vectorisation de principes actifs doit prendre en compte plusieurs paramètres pour avoir une chance de succès :

30 Comme nous venons de le préciser, le principe actif doit, autant que faire se peut, être isolé du milieu physiologique afin d'éviter toute interaction néfaste soit pour le médicament soit pour l'organisme.

Le support ne doit pas altérer ou mieux doit améliorer la biodisponibilité du médicament. Autrement dit, l'agent thérapeutique doit être libéré au sein de la molécule
35 cible (préférentiellement au niveau intracytoplasmique, dans certains cas intranucléaire) et y conserver sa totale activité.

Toutefois cette vision du médicament, agent spécifique d'un récepteur, apte à provoquer une réponse cellulaire et par là à corriger une défaillance est loin d'être générale. Si elle est juste pour les principes actifs de type hormonaux ou analgésiques, elle ne s'applique pas du tout à d'autres domaines comme par exemple les traitements anticancéreux. De tels substrats n'ont pas été conçus de cette façon : ils ne possèdent pas de spécificité de reconnaissance cellulaire. Leur but est d'inhiber la multiplication cellulaire. Ce sont généralement des agents antimitotiques et de ce fait ils peuvent agir sur l'ADN de toutes les cellules, qu'elles soient cancéreuses ou normales et créer ainsi certains troubles gênants dont la manifestation la plus fréquente est l'aplasie des tissus hématopoïétiques à laquelle s'ajoutent ensuite l'immuno-inhibition et les troubles digestifs. Depuis l'installation de la chimiothérapie, les principes actifs mis au point sont de plus en plus puissants mais malheureusement ne font pas la distinction entre cellules cancéreuses et cellules saines. Il est ainsi regrettable qu'efficacité et sélectivité en matière de traitement du cancer ne puissent être conjuguées sur un même principe actif.

Compte tenu de ces différentes considérations et observations, différents modèles vectoriels ont été proposés essentiellement de type macromoléculaire (les polymères synthétiques ou naturels) et supramoléculaire (les liposomes). Parmi tous ces modèles de vecteurs, on peut citer notamment le développement de petits polymères amphiphiles appelés télomères susceptibles de moduler la balance hydrophile-lipophile du principe actif (et donc ses propriétés physico-chimiques intrinsèques) mais également de favoriser sa pénétration intracellulaire et de lui assurer un ciblage cellulaire par l'intermédiaire d'agents de reconnaissance convenablement choisis.

"Synthesis of new telomers derived from tris(hydroxymethyl)aminomethane bearing arabinofuranosylcytosine moieties. Preliminary results on their in vitro and in vivo antitumoral activities » C. Contino, J.C. Maurizis, M. Ollier, M. Rapp, J.M. Lacombe, B. Pucci. *Eur. J. Med. Chem.*, (1998), 33, 809-816.

" Synthesis and preliminary biological assessments of a new class of amphiphilic telomers bearing 5-fluorouracil moieties" C.Contino, J.C. Maurizis and B. Pucci. *Macromol. Chem.*, (1999), 200, 1351-1355.

"A new strategy in biomedical and medical field : the synthesis and applications of telomeric structures ». P.Barthelemy, A. Polidori, B. Pucci. *Transworld Research Network, Recent developments in organic chemistry, Trivandrum*, (1999), 3, 117-140.

"Synthesis and Preliminary biological assessments of RGD bearing biocompatible telomers. Sylvain Jasseron, Christiane Contino-Pépin, Jean Claude Maurizis, Maryse Rapp, Bernard Pucci. *Bio. Med. Chem. Letters*, (2002), 12, 1067-1070.

"Synthesis and preliminary biological assessments of a new class of amphiphilic telomers bearing 5-fluorouracil moieties" C.Contino, J.C. Maurizis and B. Pucci. *Macromol. Chem.*, (1999), 200, 1351-1355

5 "Amphiphilic telomers : a new kind of antimitotic drugs macromolecular carriers." Christiane Contino-Pépin, Jean-Claude Maurizis, Bernard Pucci. *Curr. Med. Chem. – Anti-Cancer Agents*, (2002), 2, 645-665.

Les résultats acquis au cours de ces études ont permis de mettre en évidence différents points majeurs :

10 Le contrôle de la balance hydrophile-lipophile du substrat favorise son passage transmembranaire (« Uptake and subcellular distribution of a new fluorinated telomeric carrier : study on cultivated B16 melanoma and skin rat fibroblastic cells. » F. Chehade, J.C. Maurizis, B. Pucci, A.A. Pavia, M. Ollier, A. Veyre, F. Escaig C. Jeanguillaume, R. Dennebouy, G. Slodzian, E. Hindie, *Cellular and Molecular Biology*, (1996), 42, 335-342) sans pour autant apporter un caractère détergent et donc toxique
15 ("Efficiency of new non ionic telomeric surfactants towards the solubilization of subcellular fractions proteins" B. Pucci, J.C. Maurizis et A.A. Pavia, *BioOrg. Med. Chem Lett.* (1993), 3, 161-164).

Ces polymères amphiphiles permettent d'assurer un ciblage cellulaire efficace à la molécule globale et donc au principe actif ("Cell targeting by glycosidic
20 telomers -Recognition ability of galactosylated telomers by the yeast *Kluyveromyces Bulgaricus* » J. Coulon, R. Bonaly, B. Pucci, A. Polidori, P. Barthelemy, C. Contino, *Bioconjugate Chem.* (1998), 9, 152-159. "Permeability of yeast cell envelope to fluorescent galactosylated telomers derived from THAM". C. Contino, M. Briot, J. Coulon, A. Polidori, R. Bonaly and B. Pucci. *Bioconjugate Chem.*, (2000), 11, 461-468. "Synthesis
25 and Preliminary biological assessments of RGD bearing biocompatible telomers". Sylvain Jasseron, Christiane Contino-Pépin, Jean-Claude Maurizis, Maryse Rapp, Bernard Pucci. *Bio. Med. Chem. Letters*, (2002), 12, 1067-1070).

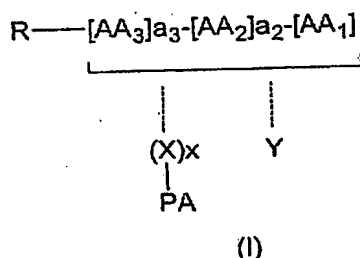
Le principe actif greffé sur le vecteur par l'intermédiaire d'un bras espaceur peptidique adapté (hydrolysable par les enzymes cytoplasmiques) est libéré au
30 niveau intracellulaire après passage du vecteur au travers de la membrane cellulaire («Synthesis and Preliminary biological assessments of RGD bearing biocompatible telomers». Sylvain Jasseron, Christiane Contino-Pépin, Jean Claude Maurizis, Maryse Rapp, Bernard Pucci. *Bio. Med. Chem. Letters*, (2002), 12, 1067-1070).

35 Cette méthode de vectorisation permet d'accroître de façon très significative l'efficacité de l'agent anticancéreux puisqu'il inhibe la prolifération des métastases, ralentit la croissance de la tumeur et prolonge la durée de vie des souris traitées d'un facteur supérieur à 3 par rapport aux souris témoins.

Malgré l'intérêt évident présenté par ces télomères qui ont été décrits dans le document WO 92/02560, un des problèmes majeurs auquel sont confrontés de tels vecteurs et qui pourrait perturber leur commercialisation et leur emploi est leur polydispersité, c'est à dire leur absence de masse et de structure bien définies.

Aussi, la Demanderesse s'est fixé pour objectif la conception et la préparation de molécules susceptibles d'être des vecteurs de principe actif ayant une structure bien définie, dont la préparation soit aisée et qui facilitent l'acheminement du principe actif jusqu'à sa cible.

L'invention a donc pour objet les molécules répondant à la formule (I) ci-dessous :



dans laquelle :

PA représente le principe actif susceptible d'agir sur une cible biologique et dont on souhaite favoriser l'acheminement jusqu'à sa cible biologique ;

x représente un entier choisi parmi 0 et 1 ;

X représente une chaîne peptidique comprenant de 1 à 5 acides aminés ;

AA₁, AA₂, AA₃, identiques ou différents, représentent chacun un acide aminé ;

a₂, a₃, identiques ou différents, représentent chacun un entier choisi parmi 0 et 1 ;

R représente un groupement choisi parmi un agent de ciblage et un agent de solubilisation. Par agent de ciblage, on entend au sens de la présente invention : une molécule favorisant l'acheminement de l'ensemble de la molécule de formule (I) jusqu'à sa cible ou toute molécule susceptible d'être reconnue par la cible du principe actif PA. Par agent de solubilisation, on entend un agent permettant la modulation de la balance HLB de la molécule de formule (I), notamment un agent hydrophile. Parmi les agents de ciblage utilisables dans la présente invention, on peut citer les monosaccharides, les dérivés aminés de sucres, les polysaccharides, les hormones naturelles ou synthétiques, les peptides, les anticorps, et de façon générale, toute molécule susceptible d'être reconnue par la cible du

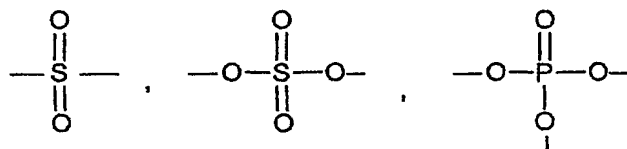
principe actif PA. Parmi les agents de solubilisation utilisables dans la présente invention, on peut citer en particulier les polyols, les polyéthers, les peptides, les polysaccharides.

Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C_4-C_{12} comportant un groupement $\begin{smallmatrix} \text{O} \\ || \\ -\text{C}- \end{smallmatrix}$, $-\text{NH}-$, $-\text{O}-\text{CO}-\text{NH}-$, S ou O permettant son rattachement, indiqué par les tirets ---, soit à l'une des extrémités de la chaîne peptidique $[\text{AA}_3]_{a3}-[\text{AA}_2]_{a2}-[\text{AA}_1]$, soit sur la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA_1 , AA_2 , AA_3 ;

les tirets --- entre $\text{PA}-(\text{X})_x$ et la chaîne $[\text{AA}_3]_{a3}-[\text{AA}_2]_{a2}-[\text{AA}_1]$ indiquent que la liaison de $\text{PA}-(\text{X})_x$ avec le reste de la molécule se fait avec la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA_1 , AA_2 , AA_3 ou éventuellement en extrémité de la chaîne peptidique.

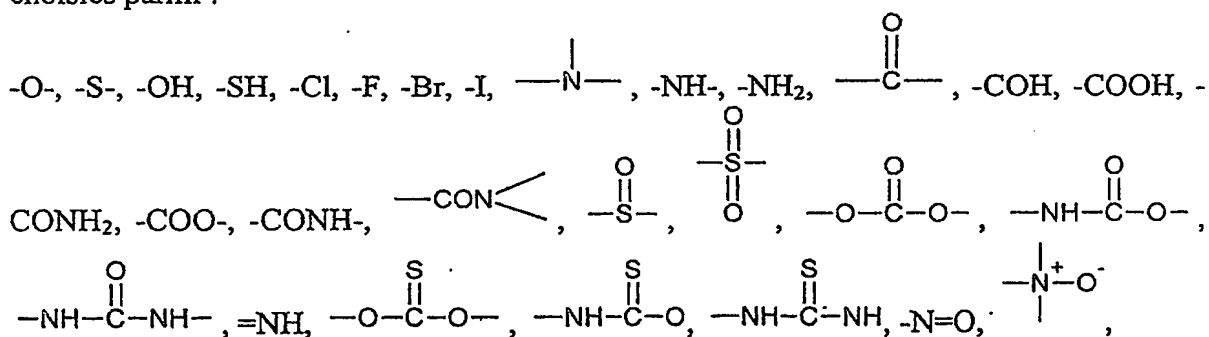
De façon plus particulière, le principe actif est choisi parmi toutes les molécules organiques ayant une activité biologique reconnue et étant susceptibles d'être reliées à un acide aminé au moyen d'une liaison qui peut être choisie parmi les fonctions -

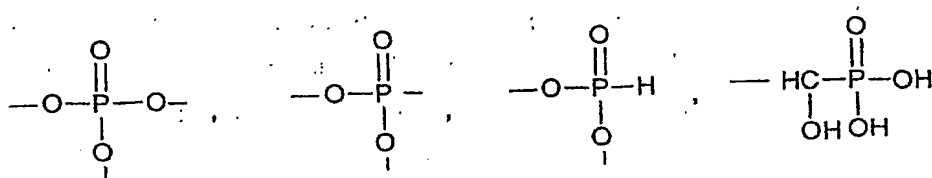
$\text{O}-\text{CO}-$, $-\text{CO}-\text{NH}-$, $-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}-$, $-\text{NH}-\text{CO}-\text{O}-$, $\text{O}-\text{CO}-\text{O}-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $\begin{smallmatrix} \text{O} \\ || \\ -\text{S}- \end{smallmatrix}$,



Parmi ces principes actifs on peut citer notamment ceux ayant une activité anticancéreuse, antiinflammatoire, antiseptique, analgésique, neuroleptique, antifongique, les molécules ayant une activité anti radicaux libres.

De façon générale, le principe actif pourra être constitué d'une molécule linéaire ramifiée ou cyclique comportant de 1 à 30 atomes de carbone, une ou plusieurs insaturations, notamment un ou plusieurs cycles aromatiques, et une ou plusieurs fonctions choisies parmi :





Le principe actif PA est relié, par l'intermédiaire d'une liaison dont la nature a été exposée ci-dessus, soit à la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃, soit à l'extrémité de la chaîne peptidique, éventuellement par l'intermédiaire d'une chaîne peptidique X (cas où x=1)

Le lien avec l'un des deux groupements Y et -(X)_x-PA, se fait sur la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃. L'acide aminé relié à PA-(X)_x- ou à Y par sa chaîne latérale est choisi parmi ceux comportant une fonction acide, amide, amine, thiol, alcool sur leur chaîne latérale. Parmi ceux-ci, on peut citer notamment la lysine, l'arginine, l'ornithine, l'acide aspartique, l'acide glutamique, l'asparagine, la glutamine, la sérine, la tyrosine, la cystéine. De préférence l'acide aminé relié par sa chaîne latérale à PA-(X)_x- ou à Y est choisi parmi : l'acide aspartique ou la lysine

Le bras espaceur X, lorsqu'il est présent, est constitué d'une chaîne peptidique engagée à une extrémité dans une liaison, avec la chaîne latérale ou l'extrémité de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃ et à l'autre extrémité dans une liaison avec le principe actif PA.

Ce bras espaceur comprend 1 à 5 acides aminés, préférentiellement 1 à 3 acides aminés.

Le bras espaceur X et/ou la chaîne peptidique [AA₃]_{a3}-[AA₂]_{a2}-[AA₁]_{a1} peuvent être choisis pour leur affinité pour la cible du principe actif PA. Ils peuvent également comporter ou être constitués de résidus tyrosine permettant le suivi *in vivo* de la molécule de formule (I) après marquage à ¹²⁵I,

R est choisi en fonction de la cible cellulaire, il pourra être de nature saccharidique (ciblage des lectines membranaires spécifiques qui se retrouvent dans des tissus particuliers et qui reconnaissent sélectivement soit le galactose -cas du foie, des os, de certaines tumeurs cancéreuses-, soit le mannose -cas des macrophages, du cœur-, soit l'acide sialique- cas des érythrocytes -...), de nature hormonale (tels que des stéroïdes), de nature synthétique tel que l'imatinib mésylate (ST571, Gleevek®) pour cibler les kinases, des anticorps spécifiques, notamment des peptide. R peut être choisi parmi tous substrats dont les recherches antérieures ont démontré la spécificité de reconnaissance. Lorsque R est un mono ou un polysaccharide ou un peptide hydrophile, il pourra de plus, apporter à la molécule l'hydrosolubilité nécessaire à son administration IV ou IP.

Lorsque R est une chaîne peptidique, R comporte avantageusement de 3 à 15 acides aminés, encore plus avantageusement de 3 à 10 acides aminés. Il peut également comporter un ou plusieurs résidus tyrosine permettant le suivi *in vivo* de la molécule de formule (I) après marquage à ^{125}I ,

5 Les acides aminés constituant le bras espaceur X, tout comme ceux constituant la chaîne $[\text{AA}_3]_{a3}-[\text{AA}_2]_{a2}-[\text{AA}_1]$ ou le groupement R sont choisis parmi les acides aminés naturels comme l'alanine, l'arginine, l'asparagine, l'acide aspartique, la cystéine, la glutamine, l'acide glutamique, la glycine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la proline, la sérine, la thréonine, le tryptophane, la tyrosine, la valine, ou les acides aminés non naturels tels que l'hydroxyproline, la norleucine, l'ornithine, la citruline, la cyclohexylalanine.

On peut également envisager d'employer des acides Ω -aminés tels que l'acide -3-aminopropionique et l'acide 4-amino-butyrique.

15 Lorsque R est un peptide, la chaîne peptidique R peut être un fragment d'anticorps ou épitope ayant une affinité prononcée pour la cible biologique de PA.

On peut citer, par exemple, parmi les peptides utilisables dans la présente invention : la séquence RGD, connue pour son affinité pour les intégrines $\alpha\text{V}\beta 3$.

20 R peut également être choisi parmi les polyols ou les polyéthers, notamment les polyoxydes d'éthylène de façon à donner à la molécule de formule (I) un équilibre hydrophile/lipophile favorisant sa solubilité dans l'eau et sa pénétration dans la cellule jusqu'à la cible du principe actif PA.

Lorsque R est constitué d'un polyol, celui-ci est avantageusement constitué d'une chaîne alkyle comprenant de 4 à 16 atomes de carbone et de 4 à 16 groupements hydroxyle.

25 Lorsque R est constitué d'une chaîne polyoxyde d'éthylène comme motif de solubilisation, celle-ci comprend avantageusement de 5 à 30 unités oxyde d'éthylène.

R peut notamment être choisi parmi les monosaccharides, les dérivés aminés de sucres, les polysaccharides.

30 Parmi les mono-saccharides utilisables dans la présente invention, on peut citer : le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le ribose. Parmi les dérivés aminés de sucres, on peut citer notamment la glucosamine. Parmi les polysaccharides utilisables dans la présente invention, on peut citer le lactose, le cellobiose ou le maltose et le lactobionamide, le saccharose. De préférence les chaînes polysaccharides utilisées dans l'invention sont des di-saccharides.

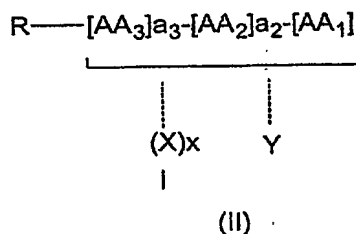
35 La fixation de R sur l'une des extrémités de la chaîne $[\text{AA}_3]_{a3}-[\text{AA}_2]_{a2}-[\text{AA}_1]$ se fait par une liaison adaptée : éther, amide, carbamate, thioéther, ester, urée, uréthane, en fonction de la fonctionnalité qui peut être greffée sur R.

La chaîne hydrocarbonée fluorée est préférentiellement choisie parmi celles répondant à la formule A-Y' dans laquelle A représente un groupement choisi

5 parmi : $\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ -\text{C}- \end{array}$, -NH-, -O-CO-NH-, S, O et Y' représente une molécule répondant à la formule $-(\text{CH}_2)_t-(\text{CF}_2)_r\text{F}$, dans laquelle r et t représentent deux entiers avec : $12 \geq r+t \geq 4$, tels que par exemple :

10 $-(\text{CF}_2)_4\text{F}$; $-(\text{CF}_2)_5\text{F}$; $-(\text{CF}_2)_6\text{F}$; $-(\text{CF}_2)_7\text{F}$; $-(\text{CF}_2)_8\text{F}$; $-(\text{CF}_2)_9\text{F}$; $-(\text{CF}_2)_{10}\text{F}$; $-(\text{CF}_2)_{11}\text{F}$; $-(\text{CF}_2)_{12}\text{F}$; $-(\text{CF}_2)_{13}\text{F}$; $-(\text{CF}_2)_{14}\text{F}$; $-\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_3\text{F}$; $-\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_4\text{F}$; $-\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_5\text{F}$; $-\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_6\text{F}$; $-\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_7\text{F}$; $-\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_8\text{F}$; $-\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_9\text{F}$; $-\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_{10}\text{F}$; $-\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_{11}\text{F}$; $-\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_{12}\text{F}$; $-\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_{13}\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_2\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_3\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_4\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_5\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_6\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_7\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_8\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_9\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_{10}\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_{11}\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_{12}\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_3-(\text{CF}_2)_1\text{F}$; $-(\text{CH}_2)_{11}-(\text{CF}_2)\text{F}$. De préférence $t \geq 2$. De préférence $12 \geq r \geq 4$, encore plus préférentiellement $10 \geq r \geq 6$

15 L'invention a également pour objet toute molécule biologiquement active comportant un fragment de formule (II)



dans laquelle R, AA₁, AA₂, AA₃, a₂, a₃, Y, X, x ont la même définition que dans la formule (I) ci-dessus.

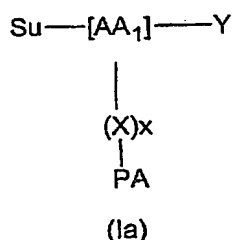
20 En effet, l'invention fournit un fragment de molécule de formule (II) à laquelle on peut accrocher par une liaison appropriée un principe actif de toute nature, comme exposé ci-dessus, de façon à favoriser la pénétration de ce principe actif dans l'organisme humain ou animal et de façon à permettre à ce principe actif d'atteindre sa cible biologique.

25 En effet, le caractère amphiphile de la molécule favorise les passages transmembranaires et l'éventuelle présence d'un agent de reconnaissance spécifique de la cible à laquelle est associé le principe actif favorise son cheminement jusqu'à cette cible.

30 L'invention a donc également pour objet l'utilisation d'un fragment de molécule de formule (II) tel que défini ci-dessus pour favoriser la biodisponibilité d'un actif.

La préparation des molécules de formule (I) est illustrée ci-dessous par des exemples correspondant à plusieurs variantes de l'invention. De façon plus générale, il est fait appel aux méthodes de protection, déprotection et couplage de la synthèse peptidique, méthodes bien connues de l'homme du métier et qui sont exposées notamment dans l'ouvrage « The peptides » Gross and Meienhofer, 3 vols, *Academic Press*, New York, 1979-1981.

Parmi les molécules répondant à la formule (I), l'un des objets particuliers de l'invention est constitué des molécules répondant à la formule (Ia) ci-dessous :



dans laquelle Su représente une variante du groupement R, choisie parmi un monosaccharide, un dérivé aminé de monosaccharide, un polysaccharide, un polyol ou éventuellement un polyéther tels qu'ils ont été définis plus haut;

AA₁ représente un acide aminé portant une fonction acide, amine, alcool, thiol, sur sa chaîne latérale, par l'intermédiaire de laquelle il est relié soit à (X)_x-PA soit à Y; AA₁ est relié à Su et soit à (X)_x-PA, soit à Y, par ses extrémités N- et C-terminales.

X, x, PA et Y ont la même définition que dans la formule (I) ci-dessus. Y est rattaché à l'extrémité aminée ou acide de AA₁ ou éventuellement à sa chaîne latérale

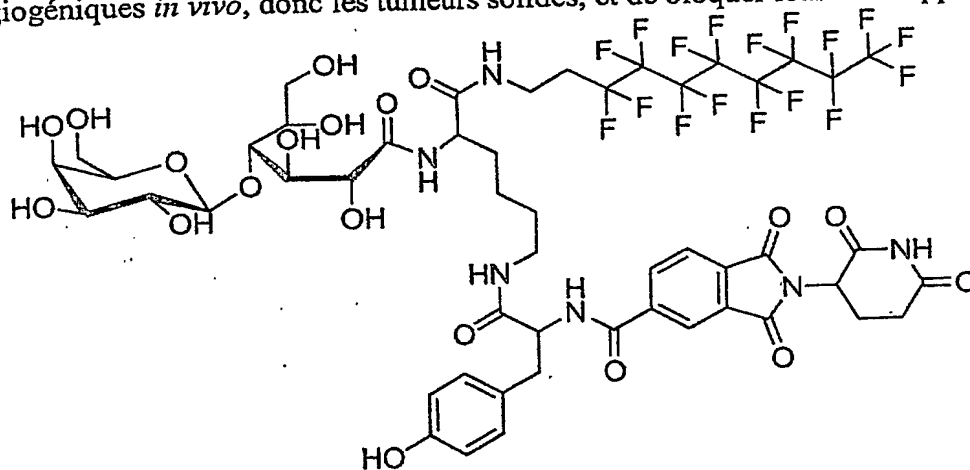
De façon préférentielle, l'une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont vérifiées :

- Su représente un mono ou un polysaccharide ;
- X représente un bras espaceur de nature peptidique comportant au moins un résidu tyrosine ; de préférence X représente la tyrosine ;
- AA₁ représente un acide aminé choisi parmi l'arginine et la lysine ;
- Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₆-C₁₂ comportant de 5 à 23 atomes de fluor, reliée à l'acide aminé AA₁ par une fonction -NH-.

Deux exemples de composés de formule (Ia) sont illustrés ci-dessous et dans les exemples :

a) Exemple 1 : Ciblage des sites angiogéniques.

L'angiogénèse est un processus biologique naturel de création de nouveaux microvaisseaux sanguins à partir de veinules préexistantes. C'est un phénomène complexe qui intervient normalement chez l'adulte seulement sous certaines conditions spécifiques telles que la cicatrisation des blessures, l'inflammation ou le développement du corpus luteum au cours du cycle menstruel. Sous des conditions normales le processus d'angiogénèse s'arrête au bout d'un laps de temps approprié indiquant une bonne régulation des facteurs stimulateurs et inhibiteurs. Sous certaines conditions pathologiques telles que la croissance des tumeurs solides, l'arthrite rhumatoïde, le psoriasis et la rétinopathie diabétique, l'angiogénèse se développe de façon nettement moins contrôlée (« Antiangiogenic agents and their promising potential in combined therapy ». P.A. Burke, S.J. DeNardo, *Crit. Rev. In Oncology/Hematology*, (2001), 39, 155-171). Il y a plus de 30 ans J. Folkman émit l'hypothèse que la croissance des tumeurs solides était intimement liée au développement de l'angiogénèse, depuis de très nombreuses équipes se sont intéressées à ce phénomène et ont essayé de mettre au point des substrats susceptibles de bloquer le processus d'angiogénèse ("Tumor angiogenic therapeutic applications" J. Folkman *Engl. J. Med.* (1971), 285, 1182-1186 et "Tumor angiogenesis past, present and the near future". R.S. Kerbel *Carcinogenesis* (2000), 21, 505-521). Parmi les différentes structures testées, le thalidomide initialement prescrit aux femmes enceintes comme sédatif et responsable de problèmes de tératogénèse, s'est révélé extrêmement intéressant pour inhiber le développement vasculaire. L'idée qui a prévalu dans le travail réalisé a été de greffer le thalidomide sur le vecteur préalablement doté d'un motif radioactif tel que la tyrosine marquée à l'iode 125. Le but recherché dans cet exemple est de visualiser aisément les sites angiogéniques *in vivo*, donc les tumeurs solides, et de bloquer leur développement.



Molécule modèle A

Dans ce but un motif lysine central a été doté d'une chaîne fluorocarbonée sur la fonction acide primaire, d'un motif de type lactose capable

d'apporter à la molécule l'hydrosolubilité nécessaire à son administration intraveineuse ou intrapéritonéale, de la tyrosine que l'on marque ensuite à l'iode 125 et sur laquelle on greffe le thalidomide préalablement doté d'une fonction acide réactive en position 3.

Selon une variante préférée de l'invention, dans les molécules répondant à la formule (Ia) le principe actif est choisi parmi les molécules susceptibles de bloquer le processus d'angiogénèse, notamment le thalidomide.

b) Exemple 2 : Vectorisation de spins-traps

Les cytopathies mitochondriales regroupent une grande variété de maladies dont le dénominateur commun est un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale. Du fait de la présence ubiquitaire des mitochondries dans l'organisme, ce dysfonctionnement peut affecter n'importe quel organe. L'atteinte peut être isolée ou, au contraire, pluriviscérale ayant alors généralement une dominante neuromusculaire. Il n'existe actuellement aucun traitement pour ces maladies qui peuvent être classées dans le cadre des "maladies orphelines".

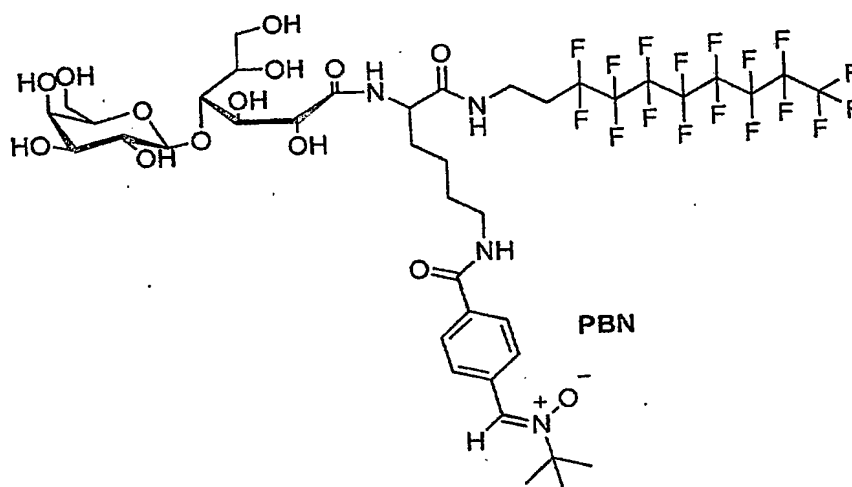
Il est néanmoins désormais clair que les mitochondries étant dans la cellule le lieu privilégié de la production des radicaux libres, les déficits de la chaîne respiratoire sont très fréquemment associés à une surproduction de radicaux libres avec pour conséquence une mort cellulaire accélérée dans les tissus atteints. Les travaux récents effectués à l'hôpital Necker dans l'équipe du Dr P. Rustin ("Increased apoptosis *in vivo* in cells lacking mitochondrial DNA gene expression" Wang J, Silva JP, Gustafsson C, Rustin P, Larsson NG. *Proc Natl Acad Sci USA* (2001) (in press)) ont permis de montrer sur une série de cellules humaines en culture l'importance de cette production des radicaux libres de l'oxygène. Ces cultures cellulaires représentent tous les types de déficits affectant les différents complexes de la chaîne respiratoire connus chez l'homme. Elles ont été caractérisées tant du point de vue du déficit touchant la chaîne respiratoire que du point de vue de la production des radicaux libres et de ses conséquences sur la survie cellulaire. Cette collection de cellules représente un outil irremplaçable pour permettre d'étudier l'efficacité de toute molécule ayant pour cible les réactions radicalaires associées aux déficits de la chaîne respiratoire.

L'identification récente dans notre équipe d'une molécule "spin-trap" capable de bloquer la mort cellulaire dans des modèles cellulaires d'apoptose induite par les radicaux libres produits par la chaîne respiratoire, nous a donné une base pour développer des molécules voisines présentant une efficacité encore améliorée ("Superoxide-induced massive apoptosis in cultured skin fibroblasts harboring the Neurogenic Ataxia Retinitis Pigmentosa (NARP) mutation in the ATPase-6 gene of the mitochondrial DNA". Geromel V, Kadhom N, Ceballos-Picot I, Ouari O, Polidori A, Munnich A, Rötig A, Rustin P. *Hum Mol Genet* (2001) (in press)) Le but poursuivi ici a été d'affiner et de simplifier la structure de ces substrats tout en conservant leur activité

biologique afin de mettre au point un processus synthétique aisément adaptable au stade industriel. Les tests ont été réalisés sur plusieurs modèles cellulaires : des cultures cellulaires présentant un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale (fibroblastes en culture), des cocultures neurones/cellules musculaires soumises à l'action de radicaux libres et enfin sur des cellules extraites de peaux ayant subi une brûlure au 3^{ème} degré.

La finalité des recherches entreprises a été de disposer de pièges à radicaux libres utilisables sur le plan clinique pour traiter les phénomènes d'apoptose et plus généralement de mort cellulaire imputables à la surproduction de radicaux libres. Les résultats extrêmement encourageants obtenus sur ces types cellulaires justifient pleinement le développement de ces modèles de vecteurs amphiphiles.

La molécule E, bâtie sur le modèle précédent, a été dotée dans ce cas particulier d'un spin-trap bien connu et efficace qui contient un dérivé de la PBN.



15

Molécule E

Les premiers tests ont été effectués *in vitro* à l'hôpital Necker sur des fibroblastes issus d'une biopsie de peau d'enfant présentant la mutation NARP. De même que le produit TAIPBN ("Superoxide-induced massive apoptosis in cultured skin fibroblasts harboring the Neurogenic Ataxia Retinitis Pigmentosa (NARP) mutation in the ATPase-6 gene of the mitochondrial DNA". Geromel V, Kadhon N, Ceballos-Picot I, Ouari O, Polidori A, Munnich A, Rötig A, Rustin P. *Hum Mol Genet* (2001) (in press) et "Synthesis of a glycolipidic amphiphile nitronium as a new spin trap for biological applications". O. Ouari, A. Polidori, F. Chalier, P. Tordo, B. Pucci. *J. Org. Chem.*, (1999), 64, 3554-3556).

précédemment testé, la molécule E présente un pouvoir de protection des cellules et inhibe le processus d'apoptose. Aucune toxicité n'a été mesurée sur ce type de produit sur l'ensemble des cellules mises en culture.

Ces résultats valident une fois de plus l'intérêt d'un tel concept de vectorisation et montrent clairement ses potentialités dans des domaines d'application tout à fait différents.

5 Selon une autre variante préférée de l'invention, dans les molécules répondant à la formule (Ia), le principe actif est choisi parmi les agents anti-radicaux, notamment les dérivés du N-benzylidène tertibutyl amine oxyde.

Parmi les molécules répondant à la formule (I), un autre objet particulier de l'invention est constitué des molécules répondant à la formule (Ib) :

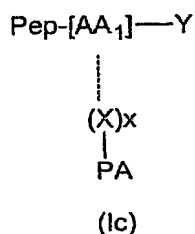
10 $\text{Pep}[\text{AA}_1]\text{-Y}$

(Ib)

dans laquelle Y et AA_1 ont la même définition que dans la formule (I) ci-dessus, notamment que dans la formule (Ia), Pep, qui est une variante de R, représente une
15 chaîne peptidique comportant de 2 à 10, préférentiellement de 4 à 6 acides aminés. Avantageusement, Pep ou AA_1 comportent au moins un motif tyrosine.

De façon avantageuse, Pep est choisi pour son affinité pour une cible biologique donnée, notamment cette chaîne peptidique peut comporter une séquence RGD (argine-glycine-acide aspartique) dont on sait qu'elle est reconnue par les intégrines $\alpha\text{V}\beta 3$.

20 Un autre objet de l'invention est constitué des molécules répondant à la formule (Ic) :



dans laquelle x, X, PA, AA_1 et Y ont la même définition que dans la
25 formule (I) ci-dessus ; notamment les molécules dans lesquelles x, X, PA, AA_1 et Y ont la même définition que dans la formule (Ia) ci-dessus ; Pep a la même définition que dans la formule (Ib) ci-dessus.

Préférentiellement, une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont vérifiées :

30 - Pep est un peptide reconnu par les intégrines $\alpha\text{V}\beta 3$ et PA est un agent antimitotique ;

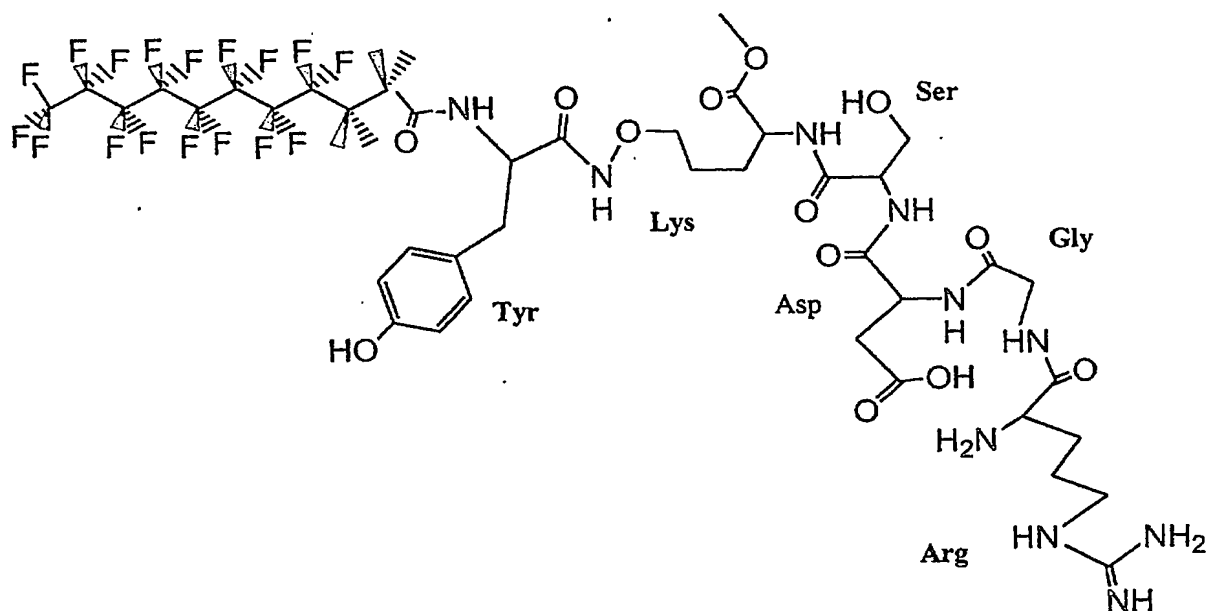
- X, Pep ou AA_1 comporte au moins un résidu tyrosine,

- X représente une chaîne de 1 à 3 acides aminés,

Un exemple de composés de formule (Ib) et (Ic) est illustré ci-dessous et dans la partie expérimentale :

c) Exemple 3 : Thérapie anticancéreuse.

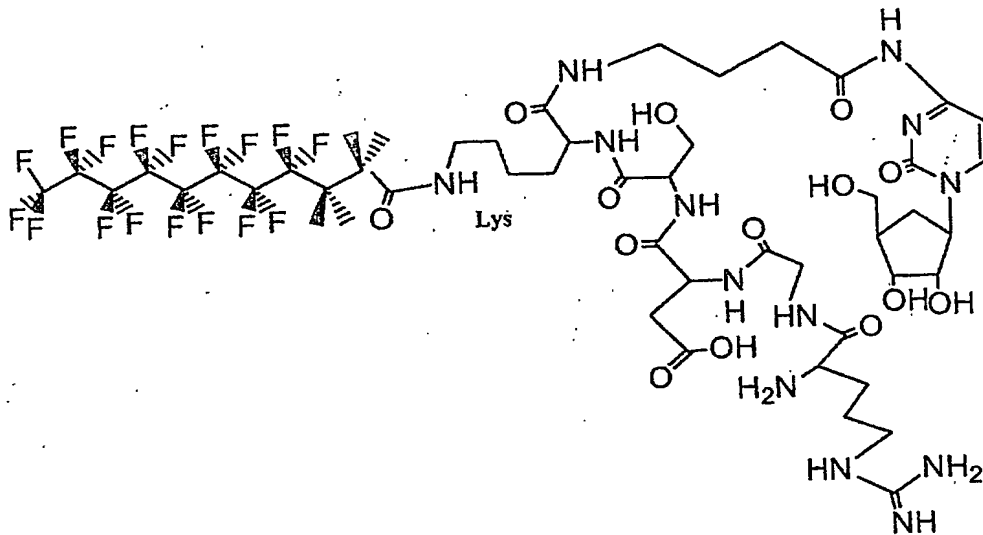
5 A l'heure actuelle, aucune technique n'a permis de mettre en évidence un critère de différenciation efficace et donc de ciblage adéquat des cellules tumorales et des cellules saines. Comme on l'a vu cependant, la croissance d'une tumeur cancéreuse est étroitement liée à son taux de vascularisation et donc au phénomène d'angiogénèse qui l'accompagne. Ces observations ont amené la communauté scientifique à mettre au point
10 des substrats, comme on l'a vu, aptes à inhiber l'angiogénèse et donc à bloquer par cet intermédiaire le développement des tumeurs. Il est en effet maintenant couramment admis que des protéines membranaires portées par les cellules angiogéniques et nommées intégrines participent activement au processus de prolifération de ces cellules. Plus particulièrement les intégrines $\alpha V\beta 3$ reconnaissent une séquence peptidique particulière, la
15 séquence RGD (arginine-glycine-acide aspartique). Le greffage de ce motif sur le vecteur proposé doit donc lui apporter une capacité de ciblage spécifique des sites d'angiogénèse et donc *in fine* des sites tumoraux. L'ajout sur ce même vecteur d'un agent antimitotique devrait permettre la destruction sélective des cellules cancéreuses. Dans cette optique la molécule B a été préparée dans un premier temps pour vérifier l'innocuité du vecteur et
20 déterminer sa spécificité. Afin de donner un plus grand degré de liberté à l'agent de ciblage celui-ci a été greffé sur la lysine centrale par l'intermédiaire d'un acide aminé hydrophobe, la sérine. La molécule est hydrosoluble et présente un caractère amphiphile.



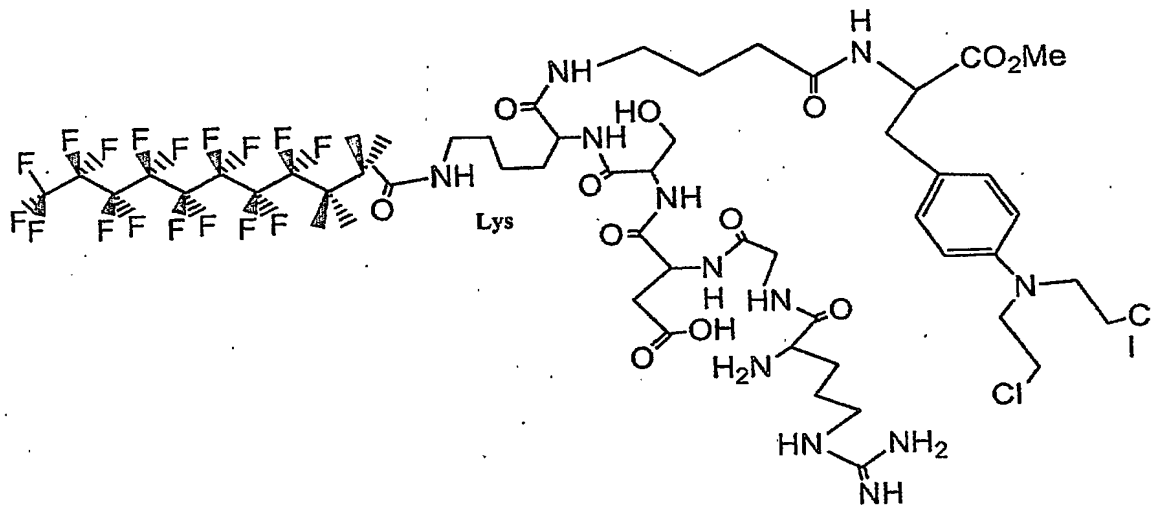
Structure de la molécule B

- Compte tenu de ces résultats positifs, deux nouveaux vecteurs porteurs de la séquence peptidique RGD et d'un agent antimétabolique tel que le melphalan ou l'Ara-C (Molécules C et D) ont alors été synthétisés et sont en cours d'analyse pour leur activité anticancéreuse.

16



Molécule C (Ara-C)



Molécule D (Melphalan)

Structure des vecteurs C et D

- Les agents antimitotiques choisis ne sont ici que des modèles et illustrent simplement la commodité d'introduction et de transport d'un agent antimitotique donné.
- 5 Ce type de vecteur peut et sera également utilisé comme agent de vectorisation de substrats tels que l'adryamicine (dans ce cas précis la molécule (Ic) comporte un fragment peptidique, soit en X soit en Pep, de type Gly-Phe-Leu-Gly), de 5-Fu (5-Fluorouracile), de Melphalan, d'inhibiteurs de tyrosine kinase tel que l'imatinib mésylate (STI571, Glivec®) par exemple ou plus généralement de tout agent anticancéreux apte à être greffé sur ces
- 10 supports. La présence de la chaîne hydrophobe fluorocarbonée favorise le passage

transmembranaire. Le relargage du principe actif est assuré par hydrolyse des liaisons peptidiques par l'intermédiaire des enzymes cytoplasmiques adaptées.

Les premiers résultats *in vitro* déjà obtenus valident pleinement ce concept.

5 L'invention a en outre pour objet l'utilisation des composés répondant à la formule (I) telle que définie ci-dessus pour la préparation d'un médicament.

En effet, il a été démontré que les composés répondant à la formule (I) selon la présente invention étaient dotés d'une biodisponibilité et d'une capacité à atteindre leur cible biologique supérieure ou égale à celle des composés de l'art antérieur.

10 Cette propriété permet d'envisager l'utilisation des molécules de l'invention dans des domaines variées :

- dans le domaine thérapeutique, les produits de l'invention peuvent être employés pour la prévention et/ou le traitement de toutes sortes de pathologies, notamment les différentes formes de cancer, les pathologies liées au stress oxydatif et à la formation
15 des espèces radicalaires oxygénées.

L'invention a par conséquent pour objet les compositions pharmaceutiques comprenant un composé selon l'invention dans un support pharmaceutiquement acceptable.

20 Elle a également pour objet l'utilisation d'un composé de formule A, C ou D pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à prévenir et/ou traiter le cancer.

Elle a également pour objet l'utilisation d'un composé de formule B pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à détecter la présence de cellules cancéreuses.

25 Elle a également pour objet l'utilisation d'un composé de formule E pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à prévenir et/ou traiter les pathologies liées au stress oxydatif et à la formation des espèces radicalaires oxygénées, notamment les maladies immunitaires et inflammatoires, le syndrome d'ischémie-reperfusion, l'artériosclérose, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, les lésions
30 dues aux radiations UV et ionisantes, certains cancers tels que les mélanomes, le vieillissement cellulaire.

Les produits de l'invention peuvent être administrés par toute voie connue de l'homme du métier, notamment par injection intraveineuse ou intramusculaire, par administration orale ou cutanée. Ils peuvent être utilisés seuls ou en association avec
35 d'autres actifs. Leur dosage et la quantité administrée quotidiennement sont adaptés en fonction de l'activité mesurée pour la molécule concernée et en fonction du poids du patient.

- dans le domaine cosmétique, le composé de formule E peut être utilisé pour prévenir et/ou traiter les effets du vieillissement.

L'invention a donc également pour objet une composition cosmétique comprenant un composé de formule E dans un support cosmétiquement acceptable.

5 Ladite composition peut être destinée à une application sur la peau ou sur les phanères (ongles, cheveux).

Elle peut se présenter sous forme d'une solution aqueuse ou huileuse, d'une émulsion eau-dans-l'huile ou huile-dans-l'eau, d'une émulsion triple, d'un onguent.

10 Les composés de l'invention peuvent être introduits dans toute composition cosmétique pour laquelle une activité antiradicalaire est recherchée : une crème de soin cutanée, un produit de protection solaire, un démaquillant, un masque pour la peau ou les cheveux, un shampoing, un produit de maquillage tel qu'un rouge à lèvres, un fard, un fond de teint, un vernis à ongles, etc...

15 Du fait de leur solubilité dans des milieux variés, les composés de l'invention sont faciles à mettre en œuvre et peuvent être employés dans des conditions très diverses.

PARTIE EXPERIMENTALE

1/ Exemple 1 :

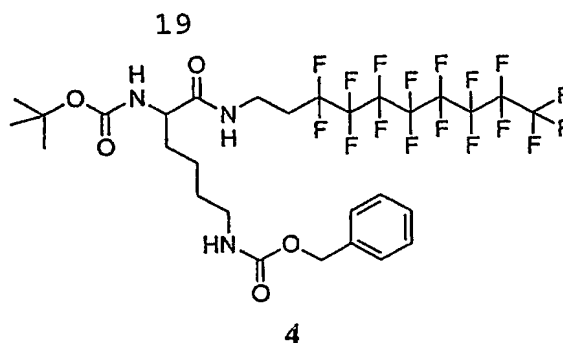
A- Préparation de la molécule A

20 2g (4mmol) de composé azoture de 1H,1H,2H,2H perfluorodécane dissous dans 30ml de méthanol anhydre, sont soumis à une hydrogénation en présence de palladium sur charbon. Après 4 heures de réaction, le milieu est filtré sur célite et le solvant évaporé sous pression réduite. L'amine correspondante 2 est isolée sans purification (rendement quantitatif).

25 Le composé 2 est remis en réaction dans 30 ml de dichlorométhane en présence de 2.2g (4mmol) de Boc-Lys-(Z)- OPhF₅ 3. Le pH de la solution est amené à 8 par ajout de quelques gouttes de DIEA.

Après 16 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite.

30 Le milieu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 3/7). Par cristallisation dans un mélange acétate d'éthyle/hexane, le composé fluoré 4 (2.68 g; 3.24mmol; 80%) est obtenu sous forme d'une poudre blanche.



rf : 0.36 dans cyclohexane/acétate d'éthyle 5/5.

$[\alpha]_D = -8.2(c:1; CHCl_3)$.

Point de fusion : 86.5-88.3°C

RMN 1H (250MHZ, $CDCl_3$) : δ 7.36 (5H, s, CH arom), 6.85 (1H, m, NH amide), 5.27 (1H, d, $J=6.65$ Hz, NH uréthane), 5.11 (2H, s, CH_2O), 4.99 (1H, t, $J=5.8$ Hz, NH uréthane), 4.06 (1H, m, $CHCO$), 3.58 (2H, dd, $J=6.5$ Hz, CH_2NH), 3.20 (2H, dd, $J=6.2$ Hz, CH_2NH), 2.35 (2H, m, CH_2CF_2), 2.0 à 1.0 (15H, m, CH_3 du Boc et CH_2 Lys).

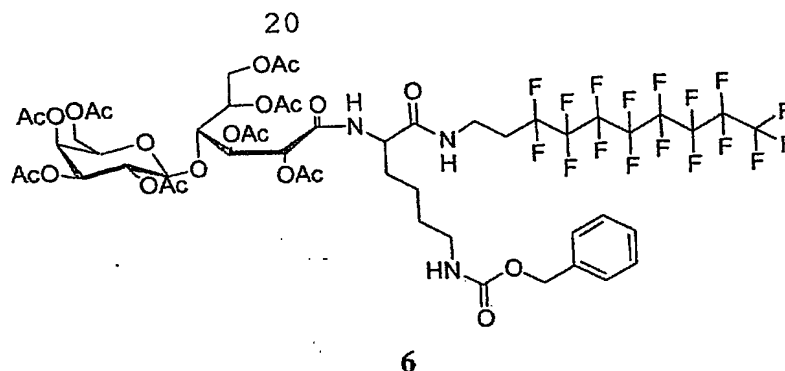
RMN ^{13}C (62.86MHZ, $CDCl_3$) : δ 172.5 (CONH), 156.7 ; 155.9 (OCONH), 136.6 (C^{IV} arom.), 128.5 ; 128.1 (CH arom.), 80.4 (C^{IV}), 66.7 (CH_2OCONH), 54.4 ($CHCO$), 40.2 (CH_2NH), 31.9 (CH_2NH), 31.3 (CH_2), 30.7(CH_2Rf), 29.5 (CH_2), 28.2 (CH_3 du tert butyl), 22.4.(CH_2).

RMN ^{19}F (235MHZ, $CDCl_3$) : δ -80.7 (3F, s, CF_3), -113.9 (2F, s, CF_2CH_2), -121.9 (6F, s, $(CF_2)_3$), -122.7(2F, s, CF_2), -123.5 (2F, s, CF_2), -126.6 (2F, s, CF_2CF_3).

0.5g (0.6mmol) de composé 4 dissout dans 30 ml de dioxane subit une hydrogénation en présence de palladium sur charbon.

Après 15 heures de réaction, le milieu est filtré sur célite et le solvant évaporé sous pression réduite. L'amine 5 obtenue est mise en réaction dans du dichlorométhane en présence de 0.21g (0.44mmol) de lactobionolactone fraîchement préparée et de la DIEA est ajoutée au milieu afin d'amener le pH de la solution à 8.

Après disparition totale de l'amine 5 (CCM), le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite. 40 mL d'un mélange anhydride acétique/pyridine 1:1 sont additionnés à froid sur le brut réactionnel. L'agitation est maintenue à température ambiante pendant 18 heures puis le mélange réactionnel est jeté sur 150 mL d'HCl 1N. La phase aqueuse est extraite par 3 fois avec 50 mL de dichlorométhane. La phase organique est respectivement lavée à deux reprises par 60 mL d'HCl 1N, puis par 60 mL de saumure et enfin séchée sur Na_2SO_4 . Les solvants sont éliminés sous pression réduite et le brut est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 6/4 puis 7/3) pour conduire au composé 6 (0.55 g; 0.39mmol; 65%) sous forme de poudre blanche.



rf : 0.22 dans acétate d'éthyle/cyclohexane 6/4

$[\alpha]_D = +2.9$ (c, 1, CHCl_3)

Point de fusion : 65 °C (début de décomposition)

5 RMN ^1H (250 MHz, DMSO-d_6) : δ 8.07 (2H, m, NH), 7.34 (5H, s, CH arom.), 7.01 (1H, m, NH), 5.47 (1H, m, H du sucre), 5.30 à 5.10 (2H, m, H du sucre), 5.02 à 4.79 (5H, m, $\text{CH}_2\text{-O}$ et H du sucre), 4.50 à 3.90 (8H, m, H du sucre et $\text{CH}\alpha$ de la lysine), 3.38 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 2.97 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 2.30 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-CF}_2$), 2.14, 2.09, 2.04, 2.01, 1.96, 1.92 (24H, 6s, CH_3 des acétyls), 1.65 à 1.10 (6H, m, CH_2 de la lysine)

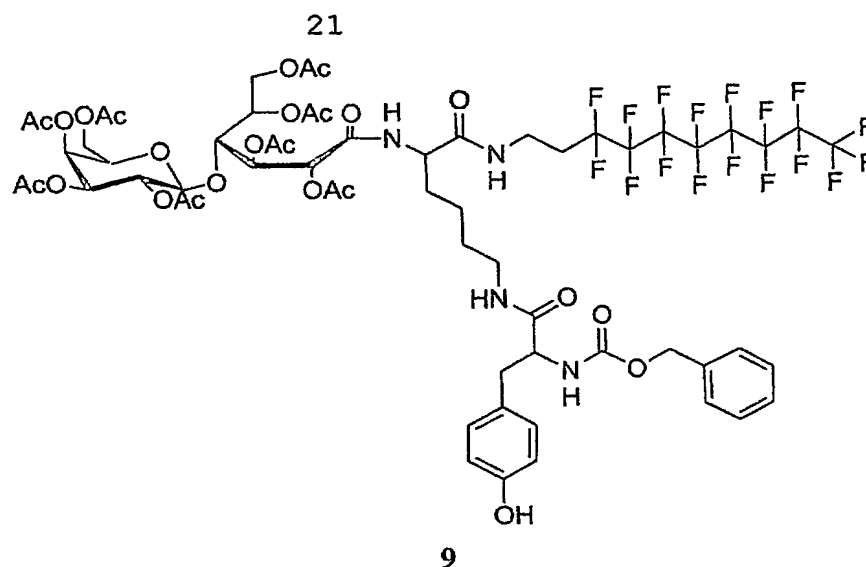
10 RMN ^{13}C (62.86 MHz, CDCl_3) : δ 171.3 (CO-NH), 170.5, 170.5, 170.1, 170.0, 170.0, 169.7, 169.2 (7s, CO-O), 167.9 (CO-NH), 156.7 (O-CO-NH), 136.7 (C^{IV} arom.), 128.4, 128.0, 127.9, (CH arom.), 101.6 (CH-1'), 77.9 (CH-4), 72.7 (CH-2), 71.1, 70.9 (CH-5' et CH-3'), 70.0 (CH-5), 69.4 (CH-3), 69.0 (CH-2'), 66.9 (CH-4'), 66.5 (CH₂-O), 61.6, 61.0 (CH₂-6 et CH₂-6'), 52.6 (CH-CO), 40.4 (CH₂-NH), 31.9 (CH₂-NH), 31.2 (CH₂-), 30.5 (CH₂-Rf), 29.1 (CH₂-), 22.2 (CH₂-), 20.6, 20.5, 20.4, 20.4, 20.3 (CH_3 des acetyls)

15 RMN ^{19}F (235 MHz, DMSO-d_6) : δ -80.2 (3F, s, CF_3), -113.0 (2F, s, $\text{CF}_2\text{-CH}_2$), -121.4 (6F, s, 3 CF_2), -122.2 (2F, s, CF_2), -123.0 (2F, s, CF_2), -125.4 (2F, s, $\text{CF}_2\text{-CH}_2$).

20 La déprotection du groupe benzyloxycarbonyl du composé 6 se déroule selon le protocole expérimental déjà décrit lors du passage du composé 4 au composé 5. A partir de 0.5 g (0.36mmol) de composé 6, on obtient l'amine 7 avec un rendement quantitatif.

25 L'amine obtenue 7 est mise en réaction dans 30 ml de dichlorométhane en présence de 0.21g (0.44mmol) de Z-Tyr-OPhF₅ (composé 8) et de la DIEA est ajoutée afin d'amener le pH de la solution à 8.

30 Après disparition totale de l'amine 7 (CCM), le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite et purifié par chromatographie sur colonne gel de silice (éluant : acétate d'éthyle 7/cyclohexane3). Le composé 9 (0.32 g; 0.21mmol; 58%) est obtenu sous forme d'une poudre blanche.



rf : 0.35 dans acétate d'éthyle/cyclohexane.

$[\alpha]_D = +1.5$ (c: 1; CHCl₃).

Point de fusion : 37.6°C (début de décomposition).

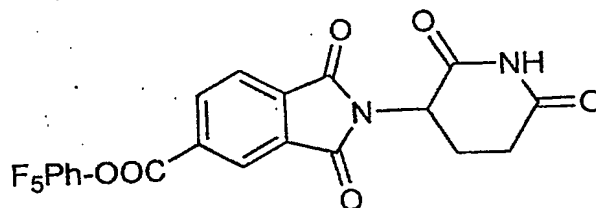
RMN ¹H (250 MHz, DMSO-d₆) : δ 8.01 (2H, m, NH), 7.71 (1H, m, NH), 7.21 (5H, s, CH arom.), 7.05 (3H, m, NH, 2H arom tyr), 6.89 (2H, d, J= 8.29Hz 2H arom tyr), 5.22 (1H, d, J=5.35Hz H du sucre), 5.02 (2H, s, CH₂Ph), 4.99 (2H, s, CH₂Ph), 4.92 (2H, m, H du sucre), 4.70 à 4.55 (5H, m, H du sucre), 4.01 à 3.75 (9H, m, CH α tyr, CH α lys, CH₂NH, 5H du sucre), 2.76 (2H, m, CH₂-NH), 2.16 (2H, m, CH₂-CF₂), 1.90 à 1.68 (24H, 6s, CH₃ des acétyls), 1.29 à 0.91 (6H, m, CH₂ de la lysine)

RMN ¹³C (62.86 MHz, CDCl₃) : δ 171.85; 171.48 (CO-NH), 170.67, 170.32, 170.18, 170.0, 169.63; 169.42 (6s, CO-O), 156.29 (CO-NH), 137.47; 136.61; 135.54 (C^{IV} arom.), 130.71; 129.03; 128.80; 128.71; 128.12; 127.96; 121.17 (CH arom.), 101.07 (CH-1'), 78.69 (CH-4), 72.22 (CH-2), 70.86; 70.21 (CH-5' et CH-3'), 70.06 (CH-5), 69.61 (CH-3), 69.3 (CH-2'), 67.60 (CH-4'), 65.69 (CH₂-O), 61.72, 61.48 (CH₂-6 et CH₂-6'), 56.62 (CH α tyr); 52.68 (CH α lys); 37.48 (CH₂-NH), 31.86 (CH₂-NH), 31.43 (CH₂-), 30.08 (CH₂-Rf), 29.09 (CH₂-), 22.77 (CH₂-), 21.08, 21.03, 20.94, 20.86, 20.76 (CH₃ des acétyls)

RMN ¹⁹F (235 MHz, DMSO-d₆) : δ -80.19 (3F,s, CF₃), -113.38 (2F, s, CF₂-CH₂), -121.67 (6F,s, 3CF₂), -122.45 (2F, s, CF₂), -123.24(2F, s, CF₂), -125.70 (2F, s, CF₂-CH₂).

A nouveau, selon le protocole expérimental déjà décrit, 0.3g (0.19mmol) de composé 9 dissout dans 30ml d'éthanol subit une hydrogénation en présence de palladium sur charbon.

L'amine 10 obtenue est mise en réaction dans du dichlorométhane en présence de 0.107 g (0.23mmol) d'ester actif de thalidomide 11 et de la DIEA est ajoutée afin d'amener le pH de la solution à 8.



Rf = 0.65 dans AcOEt 7/cyclohex. 3

$[\alpha_D] = +3.9$ (c:1; DMF)

RMN ^1H (250MHz, CDCl_3) : 8.63 (1H, s, Ph); 8.61 (1H, d, Ph); 8.09 (1H, d, Ph); 5.04 (1H, m, NCH); 2.86 (3H, m, CH_2CO , CHCH_2CO); 2.19 (2H, m, CHCH_2).

RMN ^{19}F (235MHz, CDCl_3) : -152.6 (2F, d, CF); -156.67 (1F, t, CF); -161.87 (2F, t, CF).

RMN ^{13}C (62.86, DMSO) : 177.97; 174.93; 171.64; 171.61; 170.96 (5 CO); 142.01; 140.94; 139.68; 136.89; 129.09; 128.64 (C aromatiques); 54.44 (NCH); 36.13 (CH_2CO); 27.12 (NCH CH_2)

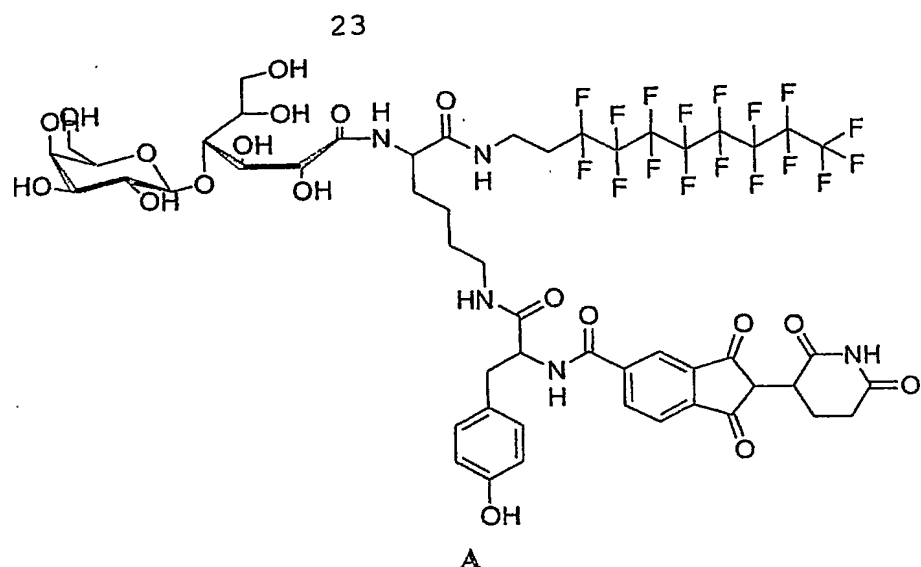
Après disparition totale de l'amine 10 (CCM), le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite et purifié par chromatographie sur colonne gel de silice (éluant : acétate d'éthyle /cyclohexane 8/2 à 9/1).

Le composé 12 est obtenu avec un très faible rendement (11mg; 6.4 μmol ; 4.5%).

rf : 0.63 dans acétate d'éthyle .

La désacétylation de la partie saccharidique de la molécule est effectuée à température ambiante dans du méthanol contenant une quantité catalytique de méthylate de sodium.

Après traitement sur de la résine H^+ (amberlite IRC 50), filtration et évaporation du solvant, le produit désacétylé A est isolé avec un rendement quantitatif.



B- Tests biologiques

- 5 Un tel substrat ne présente aucune toxicité rédhibitoire sur des cultures cellulaires de fibroblastes et de mélanomes B16. *In vivo*, la molécule se concentre dans le stroma de la tumeur ce qui permet de la visualiser de façon très nette (Cf Tableau 1).

| Tissu | 15 mn | 1 h |
|-----------------|-----------|-----------|
| Tumeur (stroma) | 4,5 ± 0,7 | 5,4 ± 0,2 |
| Tumeur (centre) | 2,6 ± 0,5 | 2,7 ± 0,5 |
| Sang | 5,9 ± 1,2 | 3,4 ± 0,7 |
| Foie | 4,5 ± 1,1 | 2,2 ± 0,8 |
| Rein | 4,6 ± 0,5 | 4,0 ± 0,9 |
| Thyroïde | 5,6 ± 0,8 | 9,8 ± 1,7 |

- 10 **Tableau 1 :** Radioactivité mesurée dans différents organes de souris porteuses de mélanomes B16 après injection par voie IP de la molécule A (10 µCi/animal).

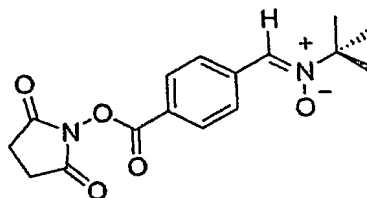
- 15 Les recherches en cours permettront de préciser son efficacité par rapport au thalidomide seul pour bloquer le développement tumoral. Les premiers résultats obtenus au cours de tests de croissance vasculaire sur des embryons de poulet (chick aortic ring assays) ont montré l'efficacité de cette structure pour inhiber la croissance des microvaisseaux. la molécule A se révèle efficace à 20µM et bloque totalement le développement à 200µM alors qu'à de telles concentrations le thalidomide se révèle inefficace.

Ce premier résultat démontre l'innocuité générale de la structure proposée et son intérêt éventuel pour le diagnostic, le thalidomide n'étant ici qu'un exemple de principe actif.

2/ Exemple 2 : préparation de la molécule E.

Cet exemple de synthèse est illustré par la figure 1.

Synthèse de l'ester actif HOOC PBN



Y

L'acétate de N-(tert-butyl)hydroxylamine est dissout dans une solution aqueuse saturée de carbonate de sodium. L'hydroxylamine est extraite à l'éther. La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 puis le solvant est éliminé sous pression réduite pour conduire à la N-tert-butylhydroxylamine libre sous forme de cristaux blancs pulvérulents.

1.00 g de 4-carboxy benzaldéhyde (6.67 mmol – 1 équiv.) et une pointe de spatule de tamis moléculaire 4 Å sont mis en suspension sous atmosphère d'argon dans 5 mL d'éthanol anhydre dégazé. 0.570 g d'hydroxylamine (6.37 mmol – 0.95 équiv.) en solution dans 5 mL d'éthanol sont additionnés à la solution de benzaldéhyde, et le milieu est porté sous obscurité à 60 °C. Après 18 heures, 0.200 g d'hydroxylamine (2.25 mmol – 0.33 équiv.) sont additionnés au milieu et l'agitation est poursuivie pendant 18 nouvelles heures. Le mélange réactionnel est filtré sur couche de célite, le solvant est éliminé sous pression réduite et le brut est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 6:4). Après recristallisation dans un mélange méthanol/éther la nitrone X (0.590 g – 2.67 mmol – 40 %) est obtenue sous forme d'une poudre blanche.

Masse molaire ($\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_3$) : 221,3 g.mol^{-1}

Point de fusion : 214.5 - 215.7 °C

RMN ^1H (250 MHz, DMSO- d_6) : δ 8.42 (2H, m, $J = 8.5$ Hz, H arom.), 7.95 (3H, m, H arom. et $\text{CH}=\text{N}(\text{O})$), 1.51 (9H, s, CH_3 du tert-butyl)

RMN ^{13}C (62.86 MHz, DMSO- d_6) : δ 166.9 (CO), 135.3 (C^{IV} arom), 131.0 ($\text{CH}=\text{N}(\text{O})$), 129.2 (CH arom.), 128.3 (C^{IV} arom), 127.9 (CH arom.), 71.1 (C^{IV}), 27.8 (CH_3 du tert-butyl)

UV (MeOH, nm) : $\lambda_{\text{max}} = 287$

0.260 g de nitrone X (1.18 mmol – 1 équiv.) sont mis en solution sous atmosphère d'argon dans 15 ml de dioxane. 0.290 g de DCC (1.41 mmol – 1.2 équiv.) et 0.16 g de HOSu (1.41 mmol – 1.2 équiv.) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 48

heures d'agitation le milieu réactionnel est filtré sur verre fritté (Porosité 4) puis le solvant est éliminé sous pression réduite. Après purification par chromatographie flash sur gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 6:4) puis recristallisation dans un mélange acétate d'éthyle/hexane, le composé Y (0.25 g – 0.79 mmol – 67 %) est obtenu sous forme d'une poudre blanche.

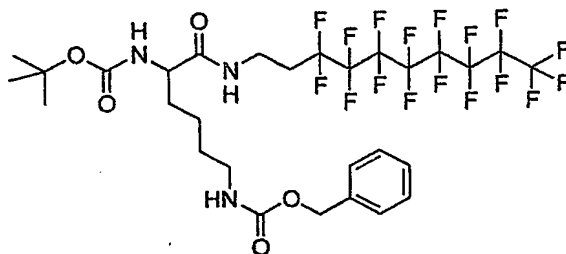
Masse molaire ($C_{16}H_{18}N_2O_5$) : 318,3 g.mol⁻¹

Point de fusion : 177.4 - 178.3 °C

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ 8.37 (2H, m, J = 8.6 Hz, H arom.), 8.12 (2H, d, J = 8.6 Hz, H arom.), 7.65 (1H, s, CH=N(O)), 2.89 (4H, s, CH₂-CO), 1.61 (9H, s, CH₃ du *tert*-butyl)

RMN ¹³C (62.86 MHz, CDCl₃) : δ 169.3, 161.3 (CO), 136.8 (C^{IV} arom), 130.7 (CH arom.), 128.6 (C^{IV} arom), 128.6 (CH arom.), 125.5 (CH=N(O)), 72.2 (C^{IV}), 28.4 (CH₂-CO), 25.7 (CH₃ du *tert*-butyl)

Synthèse du [5-*tert*-Butoxycarbonylamino-5-(3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,10-heptafluoro-decylcarbamoyl)-pentyl]-carbamoyl acid benzyl ester 3



2.26 g d'azoture $C_8F_{17}CH_2CH_2N_3$ (4.62 mmol – 1 équiv.) sont dissous dans 20 ml d'éther. Le milieu est porté à 0°C et 300 mg de palladium sur charbon (10 % - 65 mg/mmol) sont additionnés par fractions. Après 6 heures d'agitation dans la bombe à hydrogénation (pression 8 bars), le milieu est filtré sur couche de célite et les solvants sont éliminés sous pression réduite. L'amine $C_8F_{17}CH_2CH_2NH_2$ 2 est obtenue sans purification.

1.79 g de Boc-Lys(Z)OH (4.70 mmol – 1 équiv.), 1.07 g de DCC (5.18 mmol – 1.1 équiv.) et 0.64 g d'HOBt (4.70 mmol – 1 équiv.) sont mis en solution dans 20 mL de dichlorométhane anhydre. Après 15 minutes d'agitation, l'amine 2 en solution dans 10 mL de dichlorométhane anhydre est ajoutée au mélange. L'agitation est poursuivie pendant 24 heures. Le brut réactionnel est filtré sur verre fritté (Porosité 4) puis les solvants sont éliminés sous pression réduite. Après purification par chromatographie flash sur gel de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3 à 6:4) le composé fluoré 3 (3.11 g – 3.70 mmol – 79 %) est obtenue sous forme d'une poudre blanche.

Masse molaire ($C_{29}H_{32}F_{17}N_3O_5$) : 825,6 g.mol⁻¹

Point de fusion : 86.5 – 88.3 °C

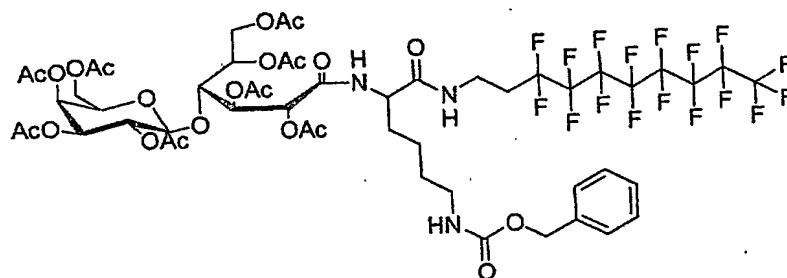
RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ 7.36 (5H, s, CH arom.), 6.85 (1H, m, NH amide), 5.27 (1H, d, J = 6.65 Hz, NH uréthane), 5.11 (2H, s, CH₂-O), 4.99 (1H, t, J = 5.8 Hz, NH uréthane), 4.06 (1H, m, CH-CO), 3.58 (2H, dd, J = 6.5 Hz, CH₂-NH), 3.20 (2H, dd, J = 6.2 Hz, CH₂-NH), 2.35 (2H, m, CH₂-CF₂), 2.0 à 1.0 (15 H, m, CH₃ du Boc et CH₂ lys)

RMN ¹³C (62.86 MHz, CDCl₃) : δ 172.5 (CO-NH), 156.7, 155.9 (O-CO-NH), 136.6 (C^{IV} arom.), 128.5, 128.1 (CH arom.), 80.4 (C^{IV}), 66.7 (CH₂-O-CO-NH), 54.4 (CH-CO), 40.2 (CH₂-NH), 31.9 (triplet, CH₂-NH), 31.3 (CH₂), 30.7 (CH₂-Rf), 29.5 (CH₂), 28.2 (CH₃ du *tert*-butyl), 22.4 (CH₂)

RMN ¹⁹F (235 MHz, DMSO-d₆) : δ -80.7 (CF₃, s), -113.9 (CF₂-CF₃, s), -121.9 (3 CF₂, m), -122.7 (CF₂, s), -123.5 (CF₂, s), -126.0 (CF₂-CH₂, s)

[α]_D = - 8.2 (c, 1, CHCl₃)

Synthèse du LactoLys(Z)C₈F₁₇(OAc)₈ 5



2.03 g du composé 3 (2.45 mmol – 1 équiv.) sont dissous dans 20 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu est amené à 0°C et 40 mL d'un mélange CH₂Cl₂/TFA 8.5:1.5 sont additionnés goutte à goutte en conservant la température à 0°C tout au long de l'addition. Après 4 heures d'agitation les solvants sont éliminés sous pression réduite. Le brut est repris dans l'éther puis évaporé afin d'éliminer les traces de TFA résiduelles par co-évaporation. L'opération est répétée plusieurs fois et conduit à l'amine libre 4.

Parallèlement 1.15 g d'acide lactobionique (3.19 mmol – 1.3 équiv.) est mis en suspension dans 40 mL d'un mélange méthoxyéthanol/toluène 1:1 acidifié par 3 gouttes de TFA.

Après évaporation à 45 °C sous pression réduite, le milieu est repris dans 30 mL de mélange méthoxyéthanol/toluène 2:1 puis évaporé sec. Cette dernière opération est répétée 2 fois pour conduire à la lactobionolactone.

La lactobionolactone et l'amine 4 sont mises en solution sous atmosphère d'argon dans 40 mL de méthanol. Le pH de la solution est amené à 9 par

addition de TEA puis le milieu est porté à reflux pendant 24 heures. Après élimination du méthanol sous pression réduite, 40 mL d'un mélange anhydride acétique/pyridine 1:1 sont additionnés à froid sur le brut. L'agitation est maintenue pendant 18 heures puis le mélange réactionnel est jeté sur 150 mL d'HCl 1N. la phase aqueuse est extraite par 3 fois 50 mL de dichlorométhane. La phase organique est respectivement lavée par 2 fois 60 mL d'HCl 1N, puis par 60 mL de saumure et enfin séchée sur Na₂SO₄. Les solvants sont éliminés sous pression réduite et le brut est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 6:4 à 7:3) pour conduire au composé 5 (2.23 g – 1.59 mmol – 65 %) sous forme de poudre blanche.

Masse molaire (C₅₂H₆₀F₁₇N₃O₂₂) : 1402,0 g.mol⁻¹

Point de fusion : 65 °C (début de décomposition)

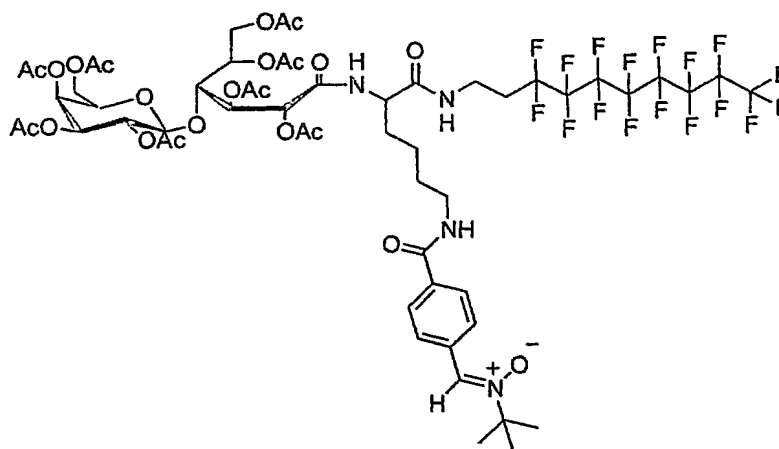
RMN ¹H (250 MHz, DMSO-d₆) : δ 8.07 (2H, m, NH), 7.34 (5H, s, CH arom.), 7.01 (1H, m, NH), 5.47 (1H, m, H du sucre), 5.30 à 5.10 (2H, m, H du sucre), 5.02 à 4.79 (5H, m, CH₂-O et H du sucre), 4.50 à 3.90 (8H, m, H du sucre et CH de la lysine), 3.38 (2H, m, CH₂-NH), 2.97 (2H, m, CH₂-NH), 2.30 (2H, m, CH₂-CF₂), 2.14, 2.09, 2.04, 2.01, 1.96, 1.92 (24H, 6s, CH₃ des acétyls), 1.65 à 1.10 (6H, m, CH₂ de la lysine)

RMN ¹³C (62.86 MHz, CDCl₃) : δ 171.3 (CO-NH), 170.5, 170.5, 170.1, 170.0, 170.0, 169.7, 169.2 (7s, CO-O), 167.9 (CO-NH), 156.7 (O-CO-NH), 136.7 (C^{IV} arom.), 128.4, 128.0, 127.9, (CH arom.), 101.6 (CH-1'), 77.9 (CH-4), 72.7 (CH-2), 71.1, 70.9 (CH-5' et CH-3'), 70.0 (CH-5), 69.4 (CH-3), 69.0 (CH-2'), 66.9 (CH-4'), 66.5 (CH₂-O), 61.6, 61.0 (CH₂-6 et CH₂-6'), 52.6 (CH-CO), 40.4 (CH₂-NH), 31.9 (triplet, CH₂-NH), 31.2 (CH₂-), 30.5 (triplet, CH₂-Rf), 29.1 (CH₂-), 22.2 (CH₂-), 20.6, 20.5, 20.4, 20.4, 20.3 (5s, CH₃ des acetyls)

RMN ¹⁹F (235 MHz, DMSO-d₆) : δ -80.2 (CF₃, s), -113.0 (CF₂-CF₃, s), -121.4 (3 CF₂, s), -122.2 (CF₂, s), -123.0 (CF₂, s), -125.4 (CF₂-CH₂, s)

[α]_D = + 2.9 (c, 1, CHCl₃)

Synthèse du LactoLys(PBN)C₈F₁₇(OAc)₈ 7



0.400 g de composé 5 (0.28 mmol – 1 équiv.) sont dissous dans 10 ml de dioxane. Le milieu est porté à 0°C et 0.190 g de palladium sur charbon (10 % - 65 mg/mmol) sont additionnés par fractions. Après 20 heures d'agitation dans la bombe à hydrogénation (pression 8 bars), le milieu est filtré sur couche de célite et les solvants sont éliminés sous pression réduite. L'amine 6 est obtenue sous forme d'une poudre blanche sans purification.

L'amine 6 est mise en solution sous flux d'argon dans 5 mL de dichlorométhane anhydre. 0.090 g d'ester actif X (0.28 mmol – 1 équiv.) sont ajoutés au milieu et le pH est amené à 9 par addition de DIEA.

L'agitation est poursuivie sous atmosphère d'argon pendant 24 heures. Les solvants sont évaporés sous pression réduite et le brut est purifié par flash chromatographie sur gel de silice (éluant : acétate d'éthyle). Une purification supplémentaire par chromatographie d'exclusion de taille sur résine Sephadex LH-20 (éluant : dichlorométhane/éthanol 1:1) permet d'obtenir la nitrone 7 (0.230 g – 0.156 mmol – 54 %) sous forme d'une poudre blanche.

Masse molaire ($C_{56}H_{67}F_{17}N_4O_{22}$) : 1471,1 g.mol⁻¹

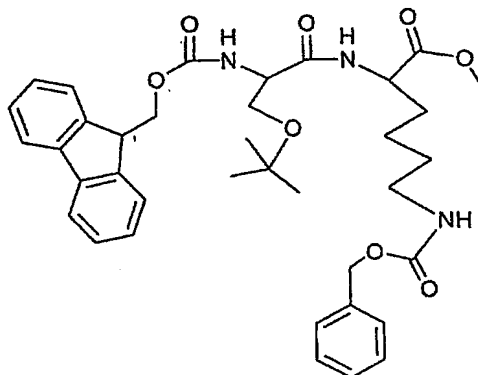
Point de fusion : 75 °C (début de décomposition)

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ 8.36 (2H, d, J = 8.3 Hz, H arom.), 7.92 (2H, d, J = 8.4 Hz, H arom.), 7.68 (1H, s, CH=N(O)), 6.94 (3H, m, NH), 5.51 (1H, dd, J = 2 Hz et J = 4.4 Hz, H-4'), 5.32 (2H, m, H-2 et H-3), 5.17 à 4.95 (3H, m, H-2', H-5 et H-3'), 4.62 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1'), 4.50 (1H, dd, J = 2.7 Hz et J = 12.5 Hz, H du sucre), 4.33 (1H, m, CH de la lysine), 4.18 (1H, dd, J = 1.6 Hz et J = 6.3 Hz, H sucre), 4.12 à 3.87 (4H, m, H sucre et H-5'), 3.50 (2H, m, CH₂-NH), 3.39 (2H, m, CH₂-NH), 2.35 (2H, m, CH₂-CF₂), 2.15, 2.09, 2.08, 2.04, 2.02, 2.00, 1.96 (24H, 7s, CH₃ des acétyls), 1.60 (11H, m, CH₃ du *tert*-butyl et CH₂ Lys), 1.85 (2H, m, CH₂ Lys), 1.35 (2H, m, CH₂ Lys)

RMN ¹³C (62.86 MHz, CDCl₃) : δ 171.5 (CO-NH), 170.6, 170.5, 170.3, 170.3, 170.0, 169.7, 169.32 (7s, CO-O), 168.2 (CO-NH), 167.1 (CO-NH), 135.2 (C^{IV} arom.), 133.7 (C^{IV} arom.), 129.3 (CH=N(O)), 128.6, 127.3, (CH arom.), 101.7 (CH-1'), 78.5 (CH-4), 72.9 (CH-2), 71.4 (C^{IV}), 71.0, 70.9 (CH-5' et CH-3'), 68.9 (CH-5), 69.3 (CH-3), 69.0 (CH-2'), 66.9 (CH-4'), 61.6, 61.1 (CH₂-6 et CH₂-6'), 52.7 (CH-CO), 39.4 (CH₂-NH), 31.9 (m, CH₂-NH), 31.1 (CH₂-), 30.5 (triplet, CH₂-Rf), 28.7 (CH₂-), 28.2 (CH₃ du *tert*-butyl), 22.2 (CH₂-), 20.7, 20.7, 20.7, 20.6, 20.5, 20.5, 20.4, (7s, CH₃ des acétyls)

RMN ¹⁹F (235 MHz, CDCl₃) : δ -80.7(s, CF₃), -114.2 (s, CF₂-CF₃), -121.9 (s, 3 CF₂), -122.7 (s, CF₂), -123.5 (s, CF₂), -126.1 (s, CF₂-CH₂)

[α]_D = + 1.6 (c, 1, CHCl₃)

3/ Exemple 3 :A- Synthèse du composé B

1

Dans un ballon de 100 ml, 0,99 g ($3 \cdot 10^{-3}$ mol) de $\text{Cl}^- \text{H}_3\text{N}^+ \text{Lys(Z) OMe}$ sont dissous dans 10 ml de Dichlorométhane. Le pH est amené à 8 à l'aide de TEA. Ensuite 1,15 g ($3 \cdot 10^{-3}$ mol, 1 eq.) de Fmoc Ser(OtBu) OH sont ajoutés ainsi que 1,72 g ($3,9 \cdot 10^{-3}$ mol, 1,3 eq) de BOP.

Le pH est maintenu à 8 tout au long de la réaction. Le milieu est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. Une fois la réaction terminée (CCM), la phase organique est lavée au HCl 1N, puis au NaHCO_3 afin de rétablir un pH de 7. La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtrée, puis évaporée sous pression réduite. La cristallisation peut s'effectuer dans un mélange Dichlorométhane / Et_2O . On obtient 1,93g du composé 1 sous forme d'une poudre blanche.

Rendement : 98%.

$R_f = 0,58$ dans 6 Acétate d'éthyle/ cyclohexane 4.

Température de dégradation: $80,6^\circ\text{C}$. $[\alpha]_{20}^D = +17,9$ (c, 1, CH_2Cl_2).

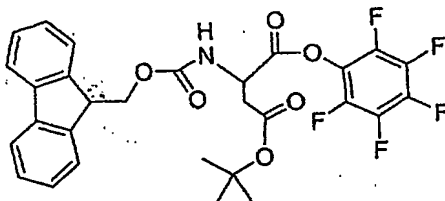
RMN du ^1H dans CDCl_3 :

$\delta = 7,75$ (2H, d, ar Fmoc); $7,60$ (2H, d, ar Fmoc); $7,43$ - $7,21$ (5H, m, ar Fmoc, NH Lys); $7,31$ (5H, s, ar Z Lys); $5,78$ (1H, d, NH Ser); $5,08$ (2H, s, CH_2 Z Lys); $4,84$ (1H, t, NH Z Lys); $4,60$ (1H, m, CH Lys); $4,39$ (2H, d, CH_2 Fmoc); $4,24$ (2H, m, CH Ser, CH Fmoc); $3,81$ (1H, dd, CH_2 Ser); $3,73$ (3H, s, OCH_3 Lys); $3,39$ (1H, dd, CH_2 Ser); $3,17$ (2H, CH_2 -NH Lys); $1,85$ - $1,29$ (6H, m, $\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ Lys); $1,22$ (9H, s, tBu Ser).

RMN du ^{13}C dans CDCl_3 :

$\delta = 172,94$ (CO Lys); $170,88$ (CO Ser); $157,08$; $156,67$ (2 O-CO-NH Fmoc et Z); $144,52$; $144,36$; $141,93$; $137,23$; $129,13$; $128,71$; $128,35$; $127,71$; $125,76$; $120,62$ (C ar Fmoc et Z); $74,96$ ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Ser); $67,80$; $67,24$ (CH_2 Fmoc et CH_2 Z); $62,39$ ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Ser); $54,93$ ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Ser); $52,99$; $52,74$ (OCH_3 Lys et $\text{C}^*\text{-CH}_2$ Lys); $47,76$ (CH

Fmoc); 41,27 ($\underline{\text{CH}_2\text{-NH-CO-O}}$ Lys); 32,74 ($\underline{\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CO-O}}$ Lys); 30,02 ($\text{C}^*\text{-}\underline{\text{CH}_2}$ Lys); 27,99 ($\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$ Ser); 22,92 ($\text{C}^*\text{-CH}_2\text{-}\underline{\text{CH}_2}$ Lys).



2

5

Dans un ballon de 50 ml, on dissout 0,68 g ($1,53 \cdot 10^{-3}$ mol) de Fmoc Asp(OtBu)OH, dans 10 ml de dichlorométhane, 0,34 g ($1,83 \cdot 10^{-3}$ mol, 1,2 eq) de pentafluorophénol et 0,38 g ($1,83 \cdot 10^{-3}$ mol, 1,2 eq) de DCC. La réaction est laissée sous agitation à température ambiante pendant 15 heures. Après filtration, le milieu est concentré sous pression réduite. L'huile résiduelle est chromatographiée sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle/ cyclohexane : 2/8). La cristallisation se fait dans l'acétate d'éthyle/ hexane. On obtient 760 mg de 2 sous forme d'une poudre blanche.

Rendement : 86,2%

15

Point de fusion : 94,6 – 95,8 °C. $[\alpha]_{20}^D = -2,3$ (c, 1, CH_2Cl_2).

RMN du ^1H dans le CDCl_3 :

$\delta = 7,77$ (2H, d, ar Fmoc); 7,61 (2H, d, ar Fmoc); 7,43-7,28 (4H, m, ar Fmoc); 5,98 (1H, d, NH); 4,98 (1H, m, CH Asp); 4,49-4,23 (3H, m, CH_2 Fmoc, CH Fmoc); 3,15 (1H, dd, CH_2 Asp); 2,90 (1H, dd, CH_2 Asp); 1,48 (9H, s, tBu Asp).

20

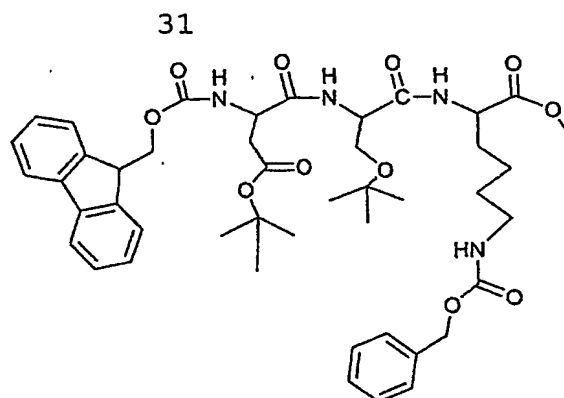
RMN du ^{13}C dans le CDCl_3 :

$\delta = 170,35$; 168,09 (2 $\underline{\text{CO-O}}$); 156,55 (O-CO-NH Fmoc); 144,43; 144,26; 142,01; 128,47; 127,78; 125,79; 120,71 ($\underline{\text{C}}$ ar Fmoc); 143,82-136,34 ($\underline{\text{CF}}$); 83,39 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ Asp); 68,21 ($\underline{\text{CH}_2}$ Fmoc); 50,97 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Asp); 47,76 ($\underline{\text{CH}}$ Fmoc); 38,31 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Asp); 28,68 ($\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$ Asp).

25

RMN du ^{19}F dans le CDCl_3 :

$\delta = -152,22$ (2F); -157,36 (1F); -162,10 (2F)



3

Avant le couplage entre le dipeptide et l'acide aminé activé, une étape de déprotection du composé 2 est nécessaire. Pour cela, 1,3 g (1,97 mmole) du dipeptide 1 sont dissous dans 15 ml d'un mélange de pipéridine / dichlorométhane à 10% v/v. Laisse
5 sous agitation pendant deux heures à température ambiante, le milieu est ensuite lavé dans une ampoule à décanter, avec une solution de HCl 1N. La phase organique est ensuite lavée avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Les phases organiques sont ensuite séchées sur sulfate de sodium, puis concentrées sous pression réduite. Le
10 couplage peut alors être réalisé.

Dans un ballon monocol de 100 ml, le dipeptide déprotégé précédemment est dissout dans 20 ml de dichlorométhane en présence de 1,138g (1,97 mmole, 1eq) de composé 2 sont ajoutés dans le ballon. La réaction se déroule à
15 température ambiante sous flux d'azote, à l'abrit de la lumière, à un pH de 8 fixé par de la DIEA. Au bout de 15 heures, la réaction est terminée (CCM). Le milieu réactionnel est concentré et le résidu est chromatographié sur gel de silice dans un mélange éluant acétate d'éthyle / cyclohexane : 5/5. Après évaporation du solvant, on obtient 970 mg de composé 3 sous forme d'un gel translucide.

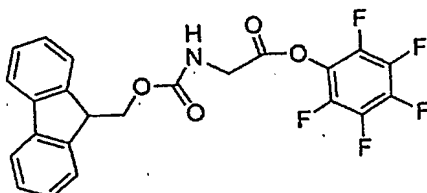
Rendement : 59,2%.

20 RMN du ^1H dans CDCl_3 : δ = 7,78 (2H, d, ar Fmoc); 7,61 (2H, d, ar Fmoc); 7,46-7,23 (6H, m, ar Fmoc, NH Lys, NH Ser); 7,36(5H, s, H ar Z Lys); 5,93 (1H, d, NH Asp); 5,11 (2H, s, CH_2 Z Lys); 4,91 (1H, t, NH Z Lys); 4,57 (2H, m, CH Asp, CH Lys); 4,48-4,42 (3H, m, CH Ser, CH_2 Fmoc); 4,26 (1H, t, CH Fmoc); 3,85 (1H, dd, CH_2 Ser); 3,74 (3H, s, OCH_3 Lys); 3,41 (1H, dd, CH_2 Ser); 3,17 (2H, CH_2 -NH Lys); 2,88 (1H, dd, CH_2 Asp); 2,72 (1H, dd, CH_2 Asp); 1,48 (9H, s, tBu Asp); 1,84-1,28 (6H, m, CH- CH_2 - CH_2 - CH_2 Lys); 1,22 (9H, s, tBu Ser).

25 RMN du ^{13}C dans CDCl_3 : δ = 172.96; 171.74; 171.14 ; 170.52 (CO Lys, CO Ser, 2 CO Asp); 157.06; 156.65 (2 O- CO -NH Fmoc et Z); 144.32; 141.94; 137.28; 129.14; 128.71; 128.41; 127.76; 125.72; 120.65 (C ar Fmoc et Z); 82.59 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Asp);
30 74.80 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Ser); 68.04; 67,88 (CH_2 Fmoc et CH_2 Z); 61.61 (C^* - CH_2 Ser); 53.99 (C^* -

CH₂ Ser); 52.95; 52.70 (OCH₃ Lys et C*-CH₂ Lys); 52.04 (C*-CH₂ Asp); 47.74 (CH Fmoc); 41.32 (CH₂-NH-CO-O Lys); 38.25 (C*-CH₂ Asp); 32.55 (CH₂-CH₂-NH-CO-O Lys); 29.93 (C*-CH₂ Lys); 28.67 (C(CH₃)₃ Asp); 27.97 (C(CH₃)₃ Ser); 22.99 (C*-CH₂-CH₂ Lys).

5



4

Dans 10 ml de dichlorométhane, sont dissous 1 g ($3,36 \cdot 10^{-3}$ mol) de Fmoc Gly OH, 0,681g de pentafluorophénol ($3,7 \cdot 10^{-3}$ mol, 1,1 eq) et 0,764 g de DCC ($3,7 \cdot 10^{-3}$ mol, 1,1 eq). Le milieu est abandonné à température ambiante pendant 24 heures. Le milieu réactionnel est ensuite filtré, puis le filtrat est concentré par évaporation sous pression réduite. Le résidu subit une chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange éluant acétate d'éthyle / cyclohexane : 5/5. la cristallisation se fait dans un mélange acétate d'éthyle / cyclohexane. 955 mg de 4 sous forme d'une poudre blanche sont obtenus. Rendement : 61,3%

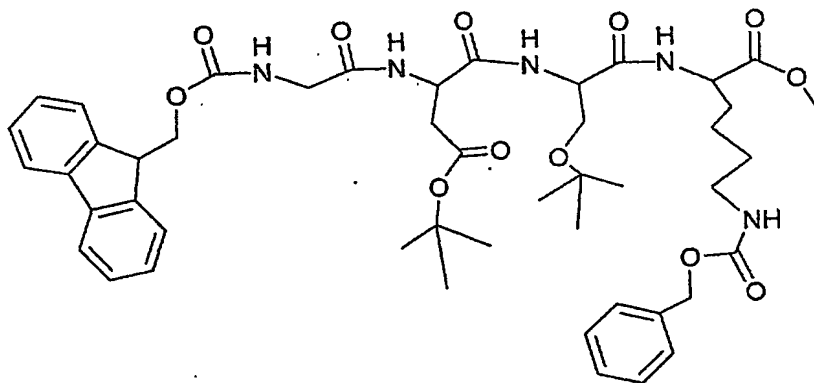
Point de fusion : 156,3-157,4. $[\alpha]_{20}^D = -1,3$ (c, 1, CH₂Cl₂).

RMN du ¹H dans CDCl₃ : δ = 7,82 (2H, d, ar Fmoc); 7,65 (2H, d, ar Fmoc); 7,47-7,25 (4H, m, ar Fmoc); 5,40 (1H, t, NH); 4,54-4,42 (5H, m, CH₂ Fmoc, CH Fmoc, CH₂ Gly)

RMN du ¹³C dans le CDCl₃ : δ = 167,14 (CO-O Gly); 156,84 (NH-CO-O); 144,31 ; 142,00; 128,46; 127,77; 125,66; 120,70 (C ar Fmoc); 68,14 (CH₂ Fmoc); 47,73 (CH Fmoc); 42,87 (CH₂ Gly).

RMN du ¹⁹F dans le CDCl₃ : δ = -152,44 (2F); -157,25 (1F); -161,96 (2F).

25



5

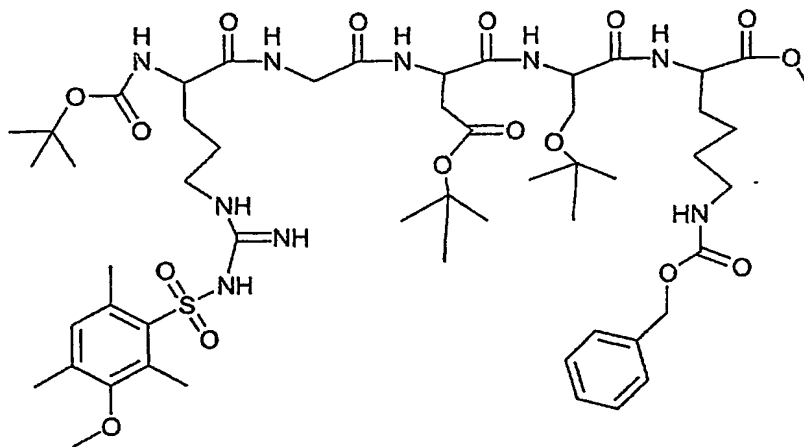
Cette synthèse est précédée de la déprotection du tripeptide suivant le même protocole que pour la synthèse de ce tripeptide (composé 3). Ce sont 500 mg (6.10^{-4} mole) de 3 qui sont déprotégés. Une fois déprotégé, ce peptide est dissout dans 10 ml de dichlorométhane dans un ballon de 100 ml. 278 mg (6.10^{-4} mole, 1eq) du composé 4 sont ajoutés au milieu réactionnel. La réaction se fait à température ambiante sous flux d'azote, et est maintenue à pH 8 à l'aide de DIEA. Au bout de 16 heures, la réaction est terminée (CCM). Après évaporation sous pression réduite du milieu, l'huile résiduelle est chromatographiée sur gel de silice avec un mélange éluant acétate d'éthyle / cyclohexane : 6/3. Dans un mélange d'acétate d'éthyle / cyclohexane, on obtient 426 mg de 5 sous forme d'une poudre blanche. Rendement : 80%.

Température de dégradation: 63,7°C.

$[\alpha]_{20}^D = +4,6$ (c, 1, CH_2Cl_2).

RMN du ^1H dans CDCl_3 : $\delta = 7,76$ (2H, d, ar Fmoc); 7,60 (2H, d, ar Fmoc); 7,45-7,22 (7H, m, ar Fmoc, NH Lys, NH Ser, NH Asp.); 7,34 (5H, s, ar Z Lys); 5,83 (1H, d, NH Gly); 5,14 (1H, t, NH Z Lys) 5,07 (2H, s, CH_2 Z Lys); 4,82 (1H, m, CH Asp); 4,57 (1H, m, CH Lys); 4,45-4,35 (3H, m, CH Ser, CH_2 Fmoc); 4,20 (1H, t, CH Fmoc); 3,89 (2H, m, CH_2 Gly); 3,75 (1H, dd, CH_2 Ser); 3,68 (3H, s, OCH_3 Lys); 3,39 (1H, dd, CH_2 Ser); 3,15 (2H, CH_2 -NH Lys); 2,88 (1H, dd, CH_2 Asp); 2,68 (1H, dd, CH_2 Asp); 1,41 (9H, s, tBu Asp); 1,91-1,29 (4H, m, $\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2$ Lys); 1,22 (9H, s, tBu Ser).

RMN du ^{13}C dans CDCl_3 : $\delta = 173,00$; 171,90; 170,75; 170,49; 169,76 (CO Lys, CO Ser, 2 CO Asp, CO Gly); 157,31; 157,13 (2 O-CO-NH Fmoc et Z); 144,45; 141,98; 137,27; 129,19; 128,78; 128,42; 127,78; 125,77; 120,68 (C ar Fmoc et Z); 82,78 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Asp); 74,78 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Ser); 68,05; 67,30 (CH_2 Fmoc et CH_2 Z); 61,60 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Ser); 54,19 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Ser); 53,01; 52,72 (OCH_3 Lys et $\text{C}^*\text{-CH}_2$ Lys); 50,28 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Asp); 47,76 (CH Fmoc); 45,26 (CH_2 Gly); 41,38 ($\text{CH}_2\text{-NH-CO-O}$ Lys); 37,68 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Asp); 32,58 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CO-O}$ Lys); 29,99 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Lys); 28,67 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Asp); 28,00 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Ser); 23,03 ($\text{C}^*\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ Lys).



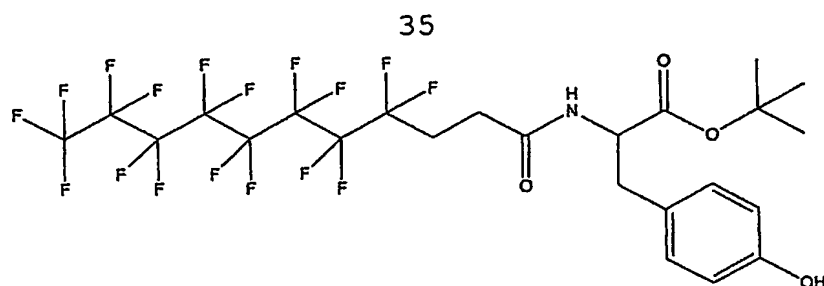
La déprotection du pentapeptide 5 se fait dans les mêmes conditions que lors de la synthèse du composé 1. 400 mg ($4,5 \cdot 10^{-4}$ mole) du tétrapeptide sont déprotégés. Une fois la déprotection terminée, ce tétrapeptide est dissout dans 15 ml de dichlorométhane dans un ballon monocol de 50 ml. 219 mg ($4,5 \cdot 10^{-4}$ mole, 1eq) de Boc Arg(Mtr) OH et 188 mg ($5,85 \cdot 10^{-4}$ mole, 1,3eq) de TBTU sont ajoutés. La réaction se déroule à température ambiante sous flux d'azote, à l'abri de la lumière et est maintenue à pH 8 avec de la DIEA. Au bout de 16 heures, la réaction est terminée (CCM). Après évaporation sous pression réduite, l'huile résiduelle est chromatographiée sur gel de silice à l'aide d'un éluant Acétate d'éthyle/cyclohexane : 9/1. La cristallisation se fait dans l'acétate d'éthyle-cyclohexane. 417 mg de 6 sous forme d'une poudre blanche sont obtenus. Rendement : 92,5 %.

Point de dégradation : $80,2^{\circ}\text{C}$.

$[\alpha]_{20}^D = -2,9$ (c, 1, CH_2Cl_2).

RMN du ^1H dans CDCl_3 : $\delta = 7,64$ (1H, d, NH Asp); $7,53$ (1H, d, NH Gly); $7,49-7,29$ (7H, m, ar Z Lys, NH Lys, NH Ser); $6,54$ (1H, s, H ar Mtr); $6,34-6,15$ (3H, m, 3 NH guanidine Arg); $5,65$ (1H, d, NH Boc Arg); $5,24$ (1H, t, NH Z Lys); $5,10$ (2H, s, CH_2 Z Lys); $4,77$ (1H, m, CH Asp); $4,46$ (2H, m, CH Lys, CH Ser); $4,22$ (1H, m, CH Arg); $3,89-3,70$ (3H, m, CH_2 Gly, 1H du CH_2 Ser); $3,84$ (3H, s, OCH_3 Mtr Arg); $3,71$ (3H, s, OCH_3 Lys); $3,50$ (1H, dd, CH_2 Ser); $3,21$ (2H, m, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$ Arg); $3,17$ (2H, CH_2 NH Lys); $2,90-2,64$ (8H, m, 2 CH_3 Mtr Arg, CH_2 Asp); $2,15$ (3H, s, CH_3 Mtr Arg); $1,84-1,19$ (37H, m, tBu Asp, tBu Ser, tBu Boc Arg, $\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ Lys, $\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2$ Arg).

RMN du ^{13}C dans CDCl_3 : $\delta = 174,32$; $174,13$; $172,85$; $171,48$; $171,35$; $170,92$; $170,18$ (CO Lys, CO Ser, 2 CO Asp, CO Gly, CO Arg, NH-C-NH Arg); $158,96$; $157,20$; $156,55$ (2 O-CO-NH Boc et Z, C-OCH_3 Mtr Arg); $139,07$; $137,25$; $137,06$; $134,19$; $129,07$; $128,87$; $128,61$; $125,30$; $112,28$ (C ar Mtr et Z); $82,37$ ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Asp); $80,53$ ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Arg); $74,63$ ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Ser); $67,09$ (CH_2 Z); $60,96$ ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Ser); $55,99$ (C-OCH_3 Mtr Arg); $54,57$; $54,23$ ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Ser, $\text{C}^*\text{-CH}_2$ Arg); $52,87$; $52,74$ (OCH_3 Lys et $\text{C}^*\text{-CH}_2$ Lys); $50,37$ ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Asp); $43,92$ (CH_2 Gly); $41,25$; $40,75$ ($\text{CH}_2\text{-NH-CO-O}$ Lys, $\text{CH}_2\text{-NH-C-NH}$ Arg); $37,59$ ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Asp); $32,27$ ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CO-O}$ Lys); $30,33$; $29,83$ ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Lys, $\text{C}^*\text{-CH}_2$ Arg); $28,94$; $28,56$; $27,86$ ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Asp, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Ser, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Arg); $25,93$ ($\text{C}^*\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ Arg); $24,74$ ($\text{C}^*\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ Lys); $23,06$; $18,95$; $12,52$ (3 CH_3 Mtr Arg).



7

Dans un ballon de 50 ml, 500 mg ($1,01 \cdot 10^{-3}$ mol) de $C_8F_{17}CH_2CH_2COOH$, 278 mg de $H_2N\ TYR(OH)\ OtBu$ ($1,01 \cdot 10^{-3}$ mol, 1 eq) et 251 mg de DCC ($1,2 \cdot 10^{-3}$ mol, 1,2 eq) sont dissous dans 10 ml de DMF. La réaction se fait à température ambiante pendant 24 heures sous flux d'azote, à l'abri de la lumière et est maintenue à pH 8 à l'aide de DIEA. Après évaporation sous pression réduite du DMF, le résidu est chromatographié sur gel de silice à l'aide d'un éluant Acétate d'éthyle/cyclohexane : 2/8.

Le produit est cristallisable dans acétate d'éthyle / n heptane. 550 mg de 7 sous forme d'une poudre blanche sont obtenus. Rendement: 76%.

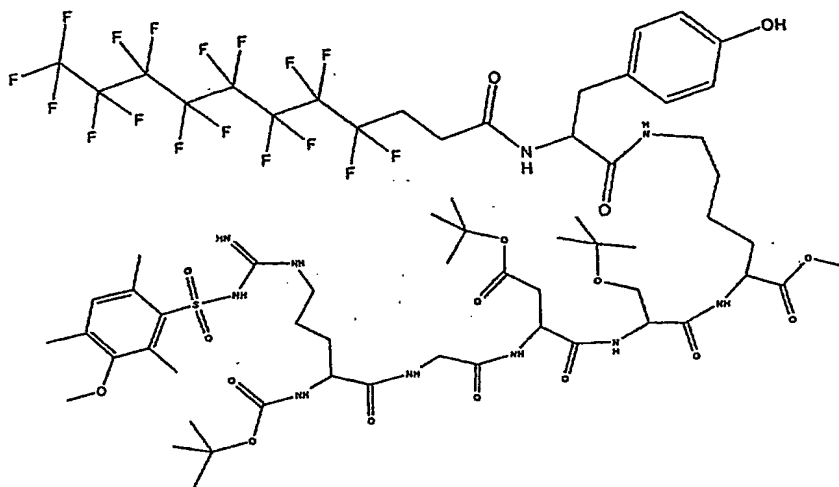
Point de fusion :.

$[\alpha]_D^{20} = +30,0$ (c, 1, CH_2Cl_2).

RMN du 1H dans $CDCl_3$: $\delta = 6,98$ (2H, d, 2H ar Tyr); 6,72 (2H, d, 2H ar Tyr); 6,04 (1H, m, NH Tyr); 4,72 (1H, m, CH Tyr); 3,02 (2H, m, $CF_2-CH_2-\underline{CH_2}-CO$); 2,47 (4H, m, $CF_2-\underline{CH_2}-CH_2-CO$, $\underline{CH_2}$ Tyr); 1,44 (9H, s, tBu).

RMN du ^{13}C dans $CDCl_3$: $\delta = 170,94$ ($\underline{CO-O}$); 169,52 ($\underline{CO-NH}$); 155,13 ($\underline{C-OH}$ Tyr); 130,70 (\underline{C} ar Tyr); 127,82 ($C-\underline{CH}$ ar Tyr); 115,49 ($\underline{CH-C-OH}$ ar Tyr); 122,5-106,3 ($\underline{CF_3}(\underline{CF_2})_7$); 82,92 ($\underline{C}-(CH_3)_3$); 53,93 ($NH-\underline{C^*}-CO$); 37,32 ($C^*-\underline{CH_2}$); 27,16 ($\underline{CH_2}-CF_2$); 25,02 ($\underline{CH_2}-CO$).

RMN du ^{19}F dans le $CDCl_3$: $\delta = -82,17$; -115,50; -122,63; -123,49; -124,25; -127,06.



10

380 mg ($5,34 \cdot 10^{-4}$ mol) du composé 7 sont dissous à froid dans une solution TFA / CH_2Cl_2 (3/7). Après 2 heures d'agitation, la déprotection est terminée. Le milieu réactionnel est ensuite concentré puis précipité dans l'éther plusieurs fois. Après évaporation, une poudre blanche est obtenue (composé 8).

150 mg ($1,32 \cdot 10^{-4}$ mol) du composé 6 sont dissous dans du méthanol. 8 mg de Palladium sur charbon à 10% sont additionnés à froid. Le milieu réactionnel est placé sous 8 atmosphères d'hydrogène. Au bout de 2 h 30 la réaction est terminée. Le mélange est filtré sur célite 521 et le filtrat concentré sous pression réduite (composé 9).

Dans un ballon de 50 ml, le composé 9 ($1,32 \cdot 10^{-4}$ mol) est dissout dans 10 ml de DMF. 95 mg du composé 8 ($1,45 \cdot 10^{-4}$ mol, 1,1 eq) et 76 mg de TBTU ($1,72 \cdot 10^{-4}$ mol, 1,3 eq) sont additionnés. La réaction se fait à température ambiante pendant 24 heures sous flux d'azote, à l'abri de la lumière et est maintenue à pH 8 à l'aide de DIEA. Le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite. Le résidu est chromatographié sur gel de silice à l'aide d'un éluant Acétate d'éthyle. 141 mg de produit 10 sont obtenus sous forme d'une poudre blanche. Rendement 65,3%.

Température de dégradation: $76,8^\circ\text{C}$.

$[\alpha]_{20}^D = -5,4$ (c, 1, CH_3OH).

RMN du ^1H dans CD_3OD : $\delta = 7,06$ (2H, d, 2H ar Tyr); 6,74 (1H, s, H ar Mtr); 6,69 (2H, d, 2H ar Tyr); 4,80-4,53 (4H, m, CH Asp, CH Lys, CH Ser CH Tyr); 4,04 (1H, m, CH Arg); 3,88-3,85 (5H, m, CH₂ Gly, OCH₃ Mtr Arg); 3,72-3,63 (5H, m, OCH₃ Lys, CH₂ Ser); 3,22-2,31 (18H, m, CH₂-CH₂-NH Arg, CH₂-NH Lys, 2 CH₃ Mtr Arg, CH₂ Asp, CF₂-CH₂-CH₂-CO, CF₂-CH₂-CH₂-CO, CH₂ Tyr); 2,15 (3H, s, CH₃ Mtr Arg); 1,85-1,20 (37H, m, tBu Asp, tBu Ser, tBu Boc Arg, CH-CH₂-CH₂-CH₂ Lys, CH-CH₂-CH₂ Arg).

RMN du ^{13}C dans CDCl_3 : $\delta = 179,69$; 174,13-173,95; 172,32; 172,07; 171,29; 171,10; 170,77; 170,21 (CO Lys, CO Ser, 2 CO Asp, CO Gly, CO Arg, NH-C-

NH Arg, $\underline{\text{CO-NH}}$ Tyr, $\underline{\text{CO-NH}}$, $\text{C}_8\text{F}_{17}\text{CH}_2\text{CH}_2\underline{\text{CONH}}$; 158,49; 156,80; 155,94 (O-CO-NH Boc, $\underline{\text{C-OCH}_3}$ Mtr Arg, $\underline{\text{C-OH}}$ ar Tyr); 138,10; 136,49; 133,45; 129,97; 127,54; 124,31; 114,81; 111,41 ($\underline{\text{C}}$ ar Mtr, $\underline{\text{C}}$ ar Tyr); 81,22; 79,47 ($\underline{\text{C(CH}_3)_3}$ Asp, $\underline{\text{C(CH}_3)_3}$ Arg); 73,42 ($\underline{\text{C(CH}_3)_3}$ Ser); 61,12 ($\text{C}^*-\underline{\text{CH}_2}$ Ser); 54,61; 52,24; 51,31; 49,91 (C-OCH_3 Mtr Arg, $\underline{\text{C}^*-\text{CH}_2}$ Ser, $\underline{\text{C}^*-\text{CH}_2}$ Arg, $\text{NH-C}^*-\text{CO}$ Tyr, OCH_3 Lys et $\underline{\text{C}^*-\text{CH}_2}$ Lys, $\underline{\text{C}^*-\text{CH}_2}$ Asp); 42,29 ; 40,08 ; 38,60 ; 37,15 ; 36,69 ($\underline{\text{CH}_2}$ Gly, $\underline{\text{CH}_2-\text{NH-CO-O}}$ Lys, $\underline{\text{CH}_2-\text{NH-C-NH}}$ Arg, $\text{C}^*-\underline{\text{CH}_2}$ Asp, $\text{C}^*-\underline{\text{CH}_2}$ Tyr); 30,77 ; 28,92 ; 28,25 ; 27,40 ; 26,96 ; 26,34 ; 25,95 ($\underline{\text{CH}_2-}$ $\underline{\text{CH}_2-\text{NH-CO-O}}$ Lys, $\text{C}^*-\underline{\text{CH}_2}$ Lys, $\text{C}^*-\underline{\text{CH}_2}$ Arg, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$ Asp, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$ Ser, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$ Arg, $\underline{\text{CH}_2-}$ CF_2 , C^*-CH_2- $\underline{\text{CH}_2}$ Lys); 22,94 ; 22,53 (1 $\underline{\text{CH}_3}$ Mtr Arg, $\text{CF}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2-\text{CO}}$); 17,42 ; 10,71 (2 $\underline{\text{CH}_3}$ Mtr Arg).

Le composé 10 soumis à l'action d'une solution d'acide trifluoroacétique dans le CH_2Cl_2 en présence de thioanizole (3 ; 5 ; 2) pendant 24h conduit au composé B qui est isolé pur après précipitation par ajout d'éther à la solution et chromatographie sur colonne Séphadex G50 (éluant H_2O). Après lyophilisation le produit B se présente sous forme de poudre blanche.

B- Tests Biologiques

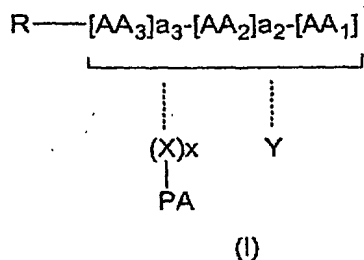
La cytotoxicité de cette molécule a été testée sur des cellules de mélanome B16, aucune toxicité n'a pu être mesurée jusqu'à des concentrations supérieures à $100\mu\text{M}$. Après marquage à l'iode 125, cette molécule injectée par voie IV à un lot de souris porteuses d'un mélanome s'accumule au niveau du stroma de la tumeur puis diffuse lentement au sein de la tumeur (cf Tableau 2)

| Tissu | 15 mn | 30 mn | 1 h |
|-----------------|---------------|----------------|----------------|
| Tumeur (stroma) | $3,9 \pm 0,8$ | $3,8 \pm 0,9$ | $4,2 \pm 0,6$ |
| Tumeur (centre) | $1,7 \pm 0,6$ | $1,8 \pm 0,3$ | $2,4 \pm 0,4$ |
| Sang | $5,8 \pm 0,8$ | $4,5 \pm 0,8$ | $3,6 \pm 0,7$ |
| Foie | $4,8 \pm 0,8$ | $2,2 \pm 0,6$ | $2,4 \pm 0,7$ |
| Rein | $8,9 \pm 1,6$ | $5,9 \pm 0,6$ | $3,5 \pm 0,6$ |
| Thyroïde | $5,9 \pm 1,2$ | $10,2 \pm 2,5$ | $15,3 \pm 5,3$ |

Tableau 2 : Radoactivité mesurée chez des souris porteuses de mélanome B16 après injection par voie IV de la molécule B ($10\mu\text{Ci/animal}$).

REVENDICATIONS

1. Composé répondant à la formule (I) ci-dessous :



5

dans laquelle :

PA représente un principe actif susceptible d'agir sur une cible biologique ;

x représente un entier choisi parmi 0 et 1 ;

10

X représente une chaîne peptidique comprenant de 1 à 5 acides aminés ;
AA₁, AA₂, AA₃, identiques ou différents, représentent chacun un acide aminé ;

a₂, a₃, identiques ou différents, représentent chacun un entier choisi parmi 0 et 1 ;

15

R représente un groupement choisi parmi :

- toute molécule susceptible d'être reconnue par la cible du principe actif PA,

et

20

- un agent hydrophile permettant la modulation de la balance HLB de la molécule de formule (I),

Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₄-C₁₂ comportant un groupement $\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ \text{C} - \end{array}$, -NH-, -O-CO-NH-, S ou O permettant son rattachement soit à l'une des extrémités de la chaîne peptidique [AA₃]_{a₃}-[AA₂]_{a₂}-[AA₁], soit sur la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃ ;

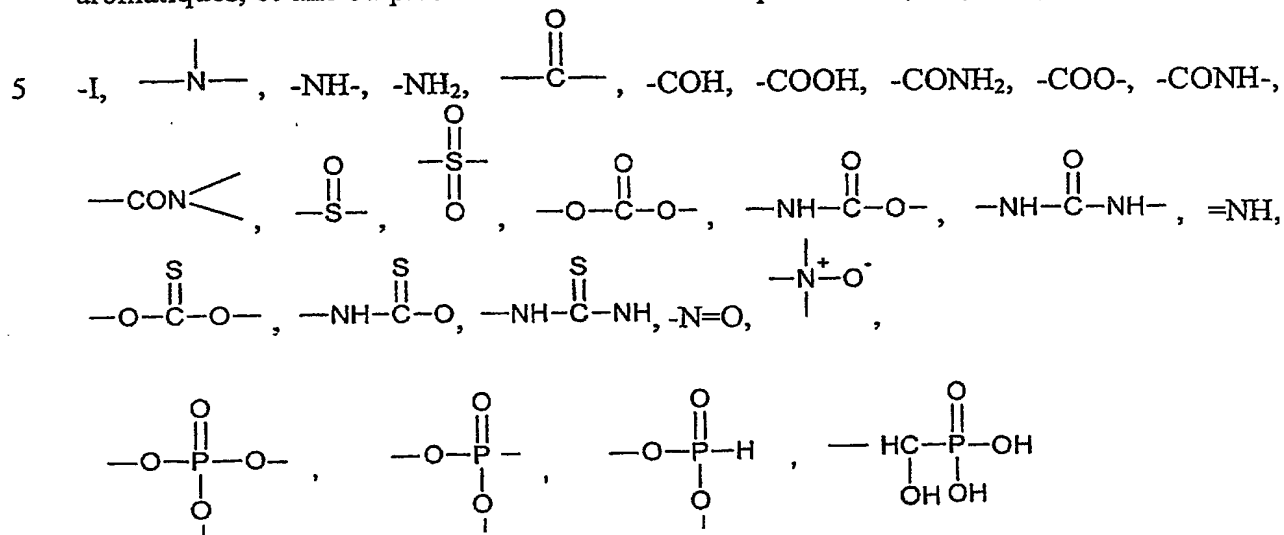
25

la liaison entre PA-(X)_x et la chaîne [AA₃]_{a₃}-[AA₂]_{a₂}-[AA₁] se faisant avec la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃ ou en extrémité de la chaîne peptidique.

30

2. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le principe actif est choisi parmi ceux ayant une activité anticancéreuse, une activité anti radicaux libres, anti-inflammatoire, antiseptique, analgésique, neuroleptique, antifongique.

3. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que le principe actif est une molécule linéaire ramifiée ou cyclique comportant de 1 à 30 atomes de carbone, une ou plusieurs insaturations, notamment un ou plusieurs cycles aromatiques, et une ou plusieurs fonctions choisies parmi : -O-, -S-, -OH, -SH, -Cl, -F, -Br,



10 4. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que l'acide aminé relié à PA-(X)_x- ou à Y par sa chaîne latérale est choisi parmi ceux comportant une fonction acide, amide, amine, thiol, alcool sur leur chaîne latérale.

5. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le bras espaceur X comprend 1 à 3 acides aminés.

15 6. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que R est choisi parmi : les monosaccharides, les dérivés aminés de sucres, les polysaccharides, les hormones naturelles ou synthétiques, les peptides, les anticorps, les polyéthers, les polyols.

20 7. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que R est un peptide choisi parmi les fragments d'anticorps ou épitope ayant une affinité prononcée pour la cible biologique de PA

8. Composé selon la revendications 7, caractérisé en ce qu'il comporte au moins une séquence peptidique choisie parmi la séquence Arg-Gly-Asp.

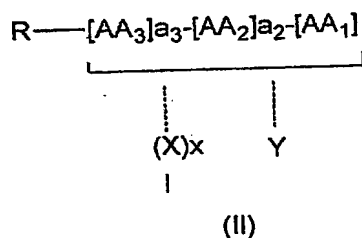
25 9. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que R est constitué d'une chaîne polyoxyde d'éthylène comprenant de 5 à 30 unités oxyde d'éthylène ou d'un polyol constitué d'une chaîne alkyle comprenant de 4 à 16 atomes de carbone et de 4 à 16 groupements hydroxyle.

30 10. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que R est choisi parmi : le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le ribose, la glucosamine, le lactose, le cellobiose, le maltose, le lactobionamide, le saccharose.

11. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que l'un au moins du bras espaceur X, de la chaîne peptidique $[AA_3]_{a_3}-[AA_2]_{a_2}-[AA_1]$ et de R comporte au moins un résidu tyrosine.

12. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que la chaîne hydrocarbonée fluorée Y est choisie parmi celles répondant à la formule A-Y' dans laquelle A représente un groupement choisi parmi : $-\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{O}-\text{CO}-\text{NH}-$, S, O et Y' représente une molécule répondant à la formule $-(\text{CH}_2)_t-(\text{CF}_2)_r\text{F}$, dans laquelle r et t représentent deux entiers avec : $12 \geq r+t \geq 4$.

13. Molécule biologiquement active comportant un fragment de formule (II) :



dans laquelle x représente un entier choisi parmi 0 et 1 ;

X représente une chaîne peptidique comprenant de 1 à 5 acides aminés ; AA₁, AA₂, AA₃, identiques ou différents, représentent chacun un acide

aminé ;

a₂, a₃, identiques ou différents, représentent chacun un entier choisi parmi

0 et 1 ;

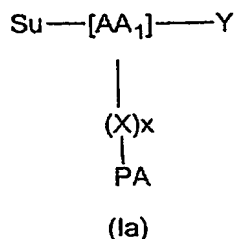
R est choisi parmi les monosaccharides, les dérivés aminés de sucres, les polysaccharides, les polyéthers, les polyols, les peptides, les hormones naturelles ou synthétiques, les anticorps ;

Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₄-C₁₂ comportant un

groupement $-\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{O}-\text{CO}-\text{NH}-$, S, O permettant son rattachement soit à l'une des extrémités de la chaîne peptidique $[AA_3]_{a_3}-[AA_2]_{a_2}-[AA_1]$, soit sur la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃.

14. Utilisation d'un fragment de molécule de formule (II) selon la revendication 13 pour favoriser la biodisponibilité d'un principe actif.

15. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (Ia) :



dans laquelle :

Su représente un groupement choisi parmi un monosaccharide, un dérivé aminé de monosaccharide, un polysaccharide, un polyol ou un polyéther;

5 AA₁ représente un acide aminé portant une fonction acide, amine, alcool, thiol, sur sa chaîne latérale, par l'intermédiaire de laquelle il est relié soit à (X)_x-PA soit à Y; AA₁ est relié à Su et soit à (X)_x-PA, soit à Y, par ses extrémités N- et C-terminales ;

PA représente un principe actif susceptible d'agir sur une cible biologique ;

10 x représente un entier choisi parmi 0 et 1 ;

X représente une chaîne peptidique comprenant de 1 à 5 acides aminés ;

Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₄-C₁₂ comportant une

fonction choisie parmi $\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ \text{C}- \end{array}$, -NH, -O-CO-NH-, S, O permettant son rattachement soit à l'une des extrémités de l'acide aminé AA₁, soit sur la chaîne latérale de AA₁.

15 16. Composé selon la revendication 15, caractérisé en ce que l'une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont vérifiées :

- Su représente un mono ou un polysaccharide ;

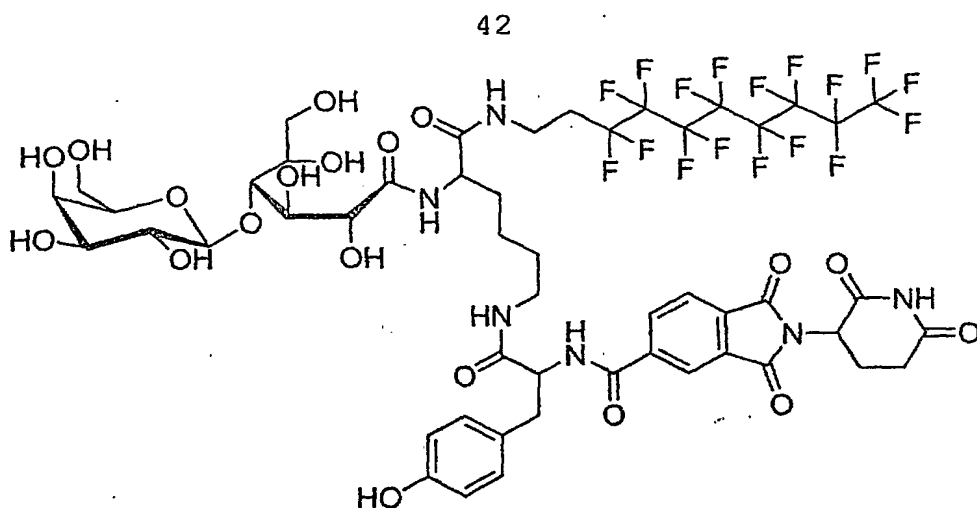
- X représente un bras espaceur de nature peptidique comportant au moins un résidu tyrosine ;

20 - AA₁ représente un acide aminé choisi parmi l'arginine et la lysine ;

- Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₆-C₁₂ comportant de 5 à 23 atomes de fluor, reliée à l'acide aminé AA₁ par une fonction -NH-.

25 17. Composé selon la revendication 16, caractérisé en ce que le principe actif est choisi parmi les molécules susceptibles de bloquer le processus d'angiogénèse, notamment le thalidomide.

18. Composé selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il répond à la formule A :

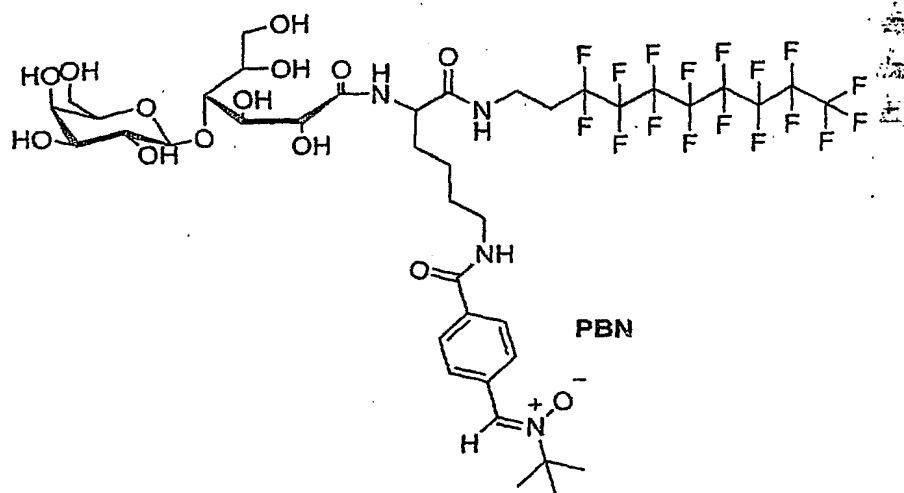


Molécule A

19. Composé selon la revendication 15, caractérisé en ce que le principe
5 actif PA est choisi parmi les agents anti-radicalaires, notamment les dérivés du N-benzylidène tertibutyl amine oxyde.

20. Composé selon la revendication 19, caractérisé en ce qu'il répond à la
formule E :

10

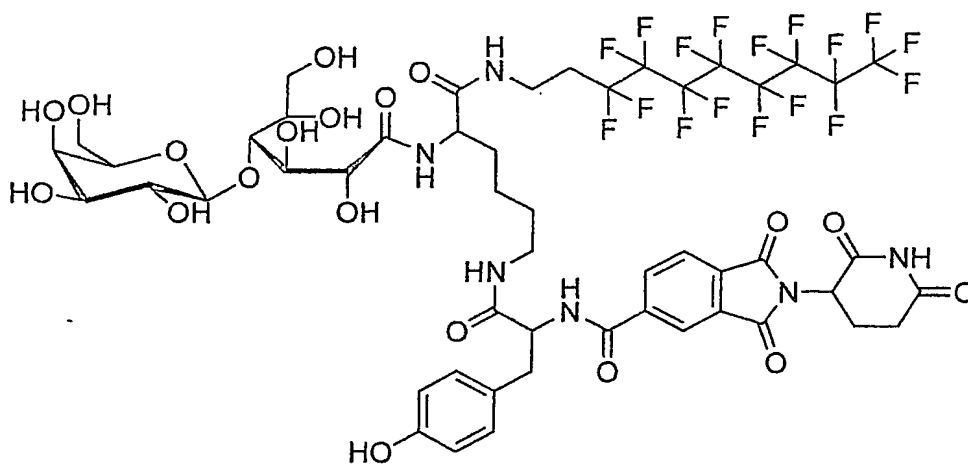


Molécule E

15 21. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (Ib) :



42

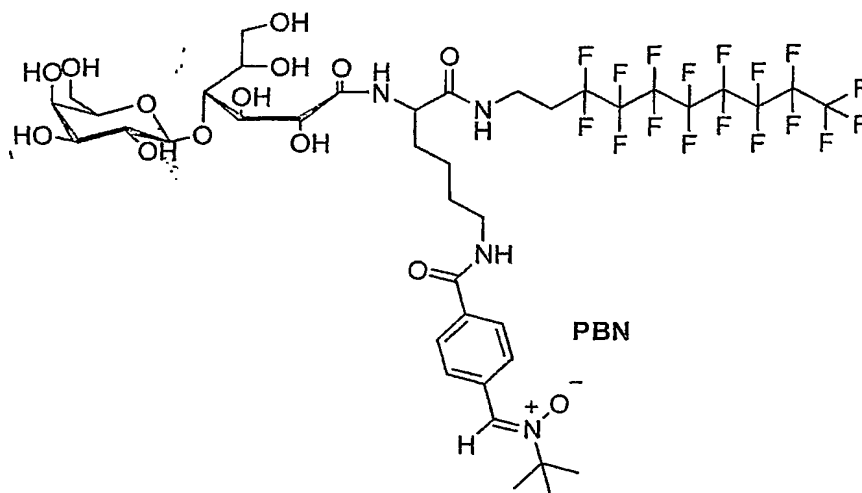


Molécule A

19. Composé selon la revendication 15, caractérisé en ce que le principe actif PA est choisi parmi les agents anti-radicalaires, notamment les dérivés du N-benzylidène tertibutyl amine oxyde.

20. Composé selon la revendication 19, caractérisé en ce qu'il répond à la formule E :

10



Molécule E

15

21. Composé caractérisé en ce qu'il répond à la formule (Ib) :

Pep-[AA₁]-Y

(Ib)

(Ib)

dans laquelle :

AA₁ représente un acide aminé portant une fonction acide, amine, alcool ou thiol, sur sa chaîne latérale,

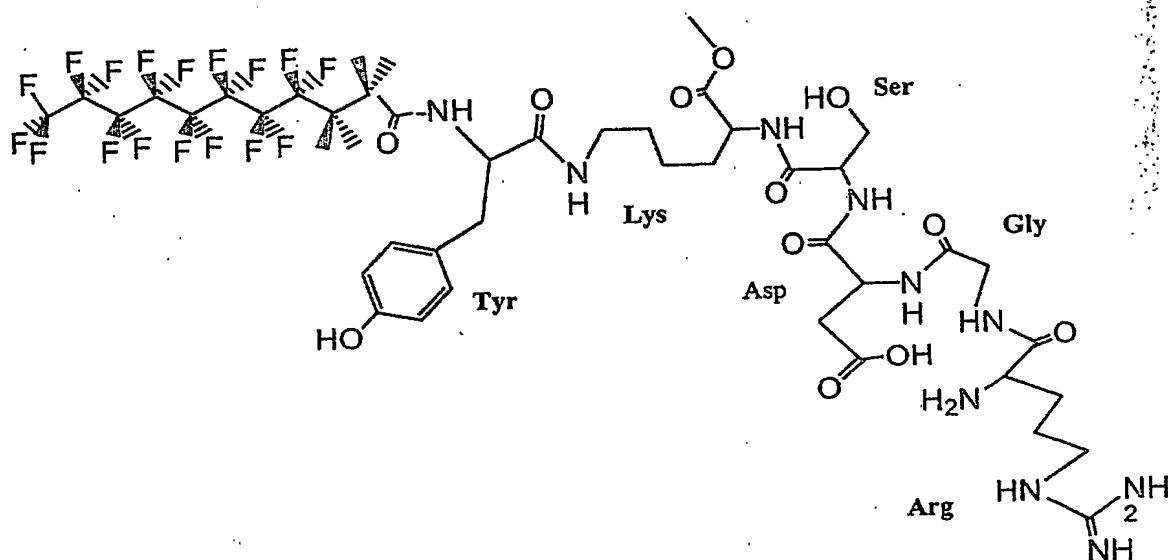
5 Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₄-C₁₂ comportant une fonction choisie parmi -C(=O)-, -NH-, -O-CO-NH-, S, O permettant son rattachement soit à l'une des extrémités de l'acide aminé AA₁, soit sur la chaîne latérale de AA₁.

Pep représente une chaîne peptidique comportant de 2 à 10, préférentiellement de 4 à 6 acides aminés.

10 22. Composé selon la revendication 21, caractérisé en ce que Pep ou AA₁ comporte au moins un motif tyrosine.

23. Composé selon la revendication 21 ou la revendication 22, caractérisé en ce que Pep comporte une séquence argine-glycine-acide aspartique.

15 24. Composé selon l'une quelconque des revendications 21, 22 ou 23, caractérisé en ce qu'il répond à la formule B :



Molécule B

20 25. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (Ic) :

dans laquelle :

AA₁ représente un acide aminé portant une fonction acide, amine, alcool ou thiol, sur sa chaîne latérale,

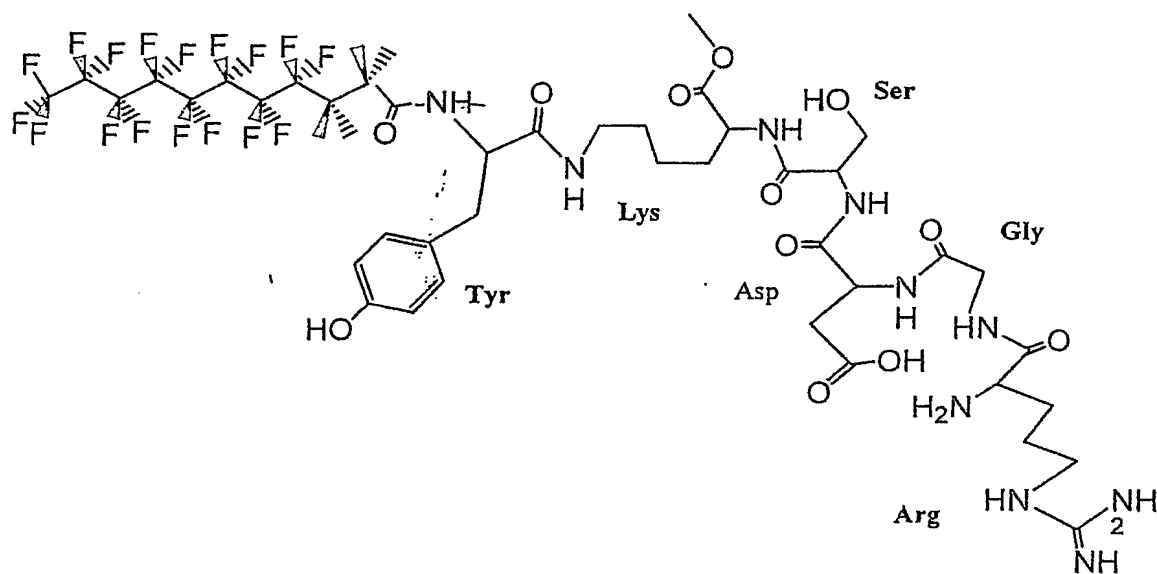
Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₄-C₁₂ comportant une fonction choisie parmi $\text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C--}$, --NH-- , --O--CO--NH-- , S, O permettant son rattachement soit à l'une des extrémités de l'acide aminé AA₁, soit sur la chaîne latérale de AA₁.

Pep représente une chaîne peptidique comportant de 2 à 10, préférentiellement de 4 à 6 acides aminés.

22. Composé selon la revendication 21, caractérisé en ce que Pep ou AA₁ comporte au moins un motif tyrosine.

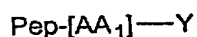
23. Composé selon la revendication 21 ou la revendication 22, caractérisé en ce que Pep comporte une séquence argine-glycine-acide aspartique.

24. Composé selon l'une quelconque des revendications 21, 22 ou 23, caractérisé en ce qu'il répond à la formule B :



Molécule B

25. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (Ic) :



dans laquelle :

5 PA représente un principe actif susceptible d'agir sur une cible biologique ;

Pep représente une chaîne peptidique comportant de 2 à 10 acides aminés

x représente un entier choisi parmi 0 et 1 ;

X représente une chaîne peptidique comprenant de 1 à 5 acides aminés ;

10 AA₁ représente un acide aminé portant une fonction acide, amine, alcool, thiol, sur sa chaîne latérale,

Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₄-C₁₂ comportant une fonction choisie parmi -C(=O)-, -NH-, -O-CO-NH-, S, O permettant son rattachement soit à l'une des extrémités de l'acide aminé AA₁, soit sur la chaîne latérale de AA₁.

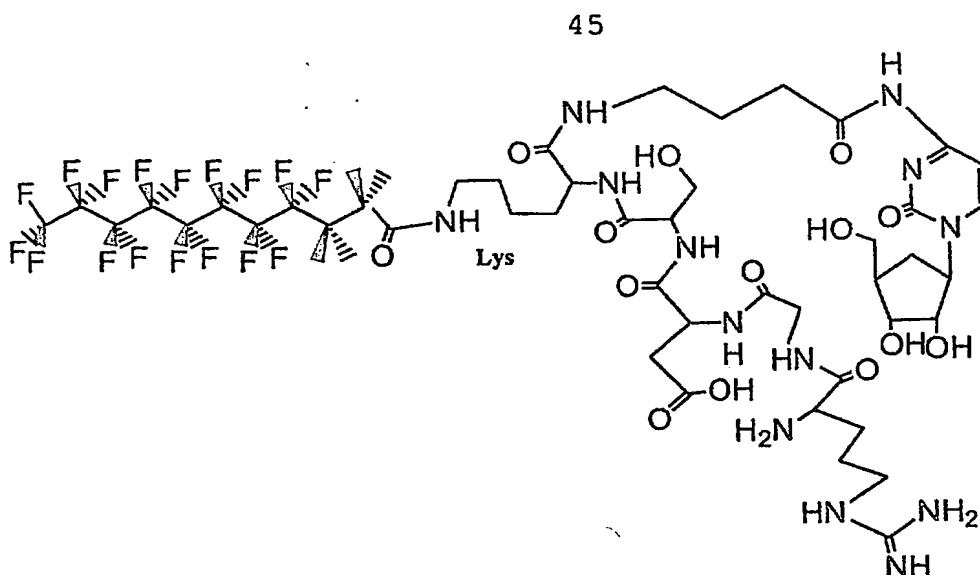
15 26. Composé selon la revendication 25, caractérisé en ce que l'une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont vérifiées :

Pep est un peptide reconnu par les intégrines $\alpha\text{V}\beta\text{3}$ et PA est un agent antimitotique ;

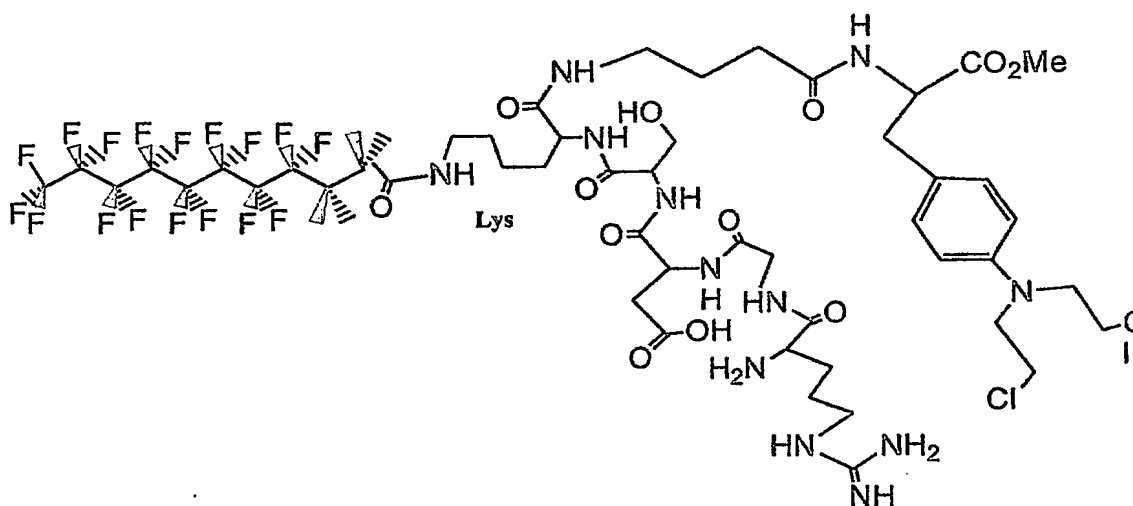
X, Pep ou AA₁ comporte au moins un résidu tyrosine,

20 X représente une chaîne de 1 à 3 acides aminés,

27. Composé selon la revendication 25 ou la revendication 26, caractérisé en ce qu'il répond à l'une des formules C et D :



Molécule C (Ara-C)



Molécule D (Melphalan)

28. Composé selon la revendication 25, caractérisé en ce que PA est l'adryamicine et X ou Pep comporte un fragment Gly-Phe-Leu-Gly.

5 29. Composé selon la revendication 25, caractérisé en ce que PA est choisi parmi le melphalan, le 5-fluorouracile, l'imitinib mésylate.

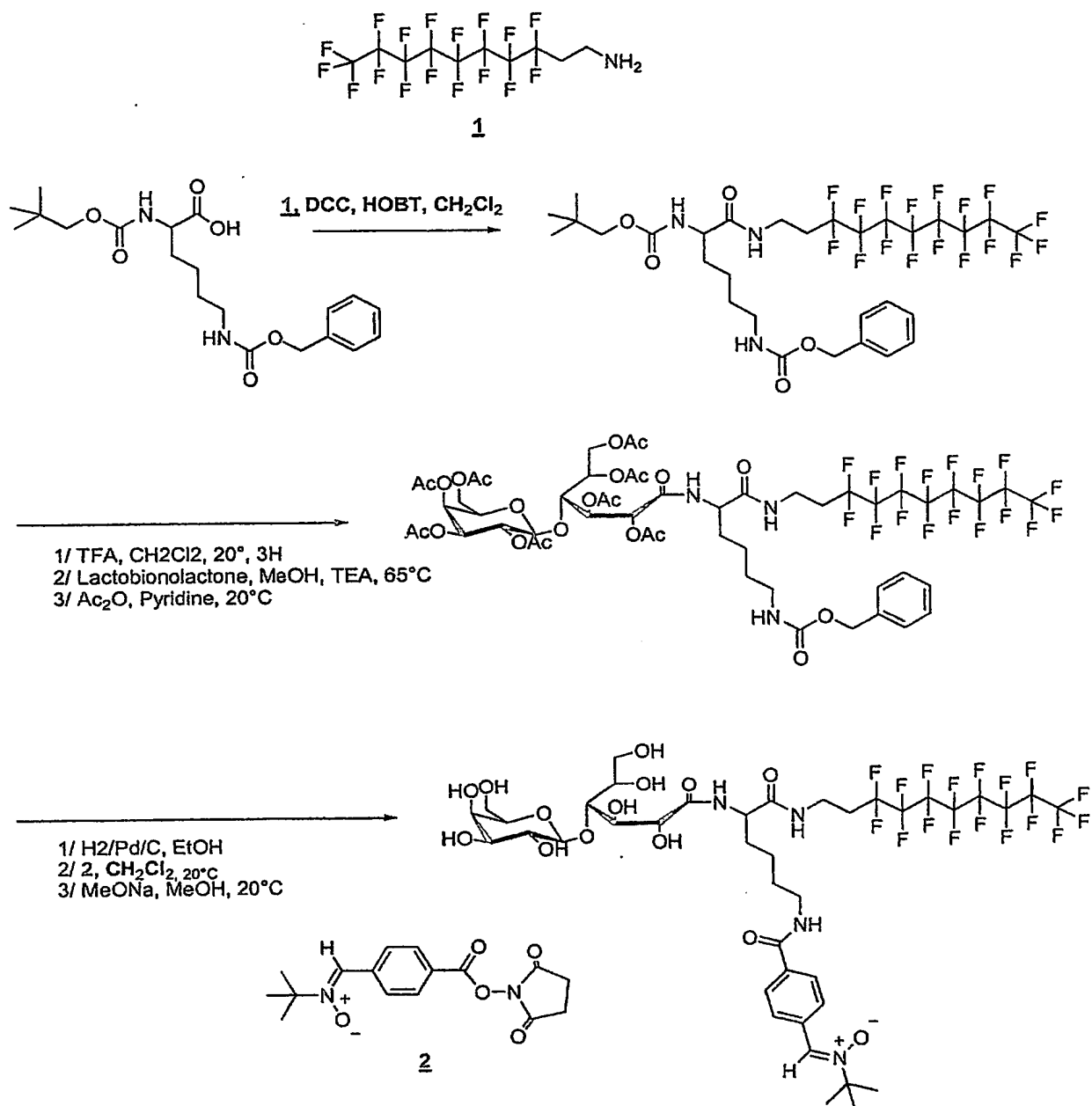
30. Composition pharmaceutique comprenant un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 et 15 à 29 dans un support pharmaceutiquement acceptable.

10 31. Utilisation d'un composé de formule A, C ou D selon l'une des revendications 18 et 27 pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à prévenir et/ou traiter le cancer.

32. Utilisation d'un composé de formule B selon la revendication 24 pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à détecter la présence de cellules cancéreuses.

- 5 33. Utilisation d'un composé de formule E selon la revendication 20 pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à prévenir et/ou traiter les pathologies liées au stress oxydatif et à la formation des espèces radicalaires oxygénées.

Synthèse chimique du vecteur dote d'un spin-trap dérivé de la PBN



DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.../2...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

INV

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 G VI / 270501

| | | |
|---|----------------------|------------------------------|
| Vos références pour ce dossier (facultatif) | | VCcagF1578/2 FR |
| N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL | | 0214638 |
| TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) | | |
| NOUVEAUX VECTEURS MOLECULAIRES AMPHIPHILES FLUOROCARBONES A USAGE BIOMEDICAL ET MEDICAL. | | |
| LE(S) DEMANDEUR(S) : | | |
| - SALLES Jean-Pierre agissant au nom et pour le compte de la Société dénommée TS PHARMA, Société en cours de formation. 830 Chemin de Vergon 13510 EGUILLES | | |
| - UNIVERSITE D'AVIGNON ET DES PAYS DU VAUCLUSE 74, rue Louis Pasteur 84029 AVIGNON CEDEX 1 | | |
| DÉSIGNED(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : | | |
| 1 Nom | | PUCCI |
| Prénoms | | Bernard |
| Adresse | Rue | 12, Avenue des Alpilles |
| | Code postal et ville | 13 940 MOLLEGES |
| Société d'appartenance (facultatif) | | |
| 2 Nom | | POLIDORI |
| Prénoms | | Ange |
| Adresse | Rue | 16D, Avenue de la Synagogue |
| | Code postal et ville | 84 000 AVIGNON |
| Société d'appartenance (facultatif) | | |
| 3 Nom | | CONTINO-PEPIN |
| Prénoms | | Christiane |
| Adresse | Rue | 10, lotissement "La Garance" |
| | Code postal et ville | 84 210 ALTHEN DES PALUDS |
| Société d'appartenance (facultatif) | | |
| S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages. | | |
| DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) | | |
| Béatrice ORES N° 92-4046 | | |



DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11235*03

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 2../2..

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

CB 113 3 W / 270601



| | | |
|--|----------------------|--|
| Vos références pour ce dossier (facultatif) | | VCcagF1278/2 FR |
| N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL | | 0214033 |
| TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) | | |
| NOUVEAUX VECTEURS MOLECULAIRES AMPHIPHILES FLUOROCARBONES A USAGE BIOMEDICAL ET MEDICAL. | | |
| LE(S) DEMANDEUR(S) : | | |
| - SALLES Jean-Pierre agissant au nom et pour le compte de la Société dénommée TS PHARMA, Société en cours de formation. 830, Chemin de Vergon 13510 EGUILLES | | |
| - UNIVERSITE D'AVIGNON ET DES PAYS DU VAUCLUSE 74, rue Louis Pasteur 84029 AVIGNON CEDEX 1 | | |
| DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : | | |
| 1 | Nom | DURAND |
| | Prénoms | Grégory |
| Adresse | Rue | 12, Avenue Louis Pasteur BP 105 |
| | Code postal et ville | [3 0 4 0 1] VILLENEUVE LEZ AVIGNON CEDEX |
| Société d'appartenance (facultatif) | | |
| 2 | Nom | JASSERON |
| | Prénoms | Sylvain |
| Adresse | Rue | 105 route d'Avignon |
| | Code postal et ville | [3 0 6 5 0] ROCHEFORT DU GARD |
| Société d'appartenance (facultatif) | | |
| 3 | Nom | PERINO |
| | Prénoms | Sandrine |
| Adresse | Rue | Chemin de Rayalette |
| | Code postal et ville | [3 0 3 9 0] DOMAZAN |
| Société d'appartenance (facultatif) | | |
| S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages. | | |
| DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) | | |
| Béatrice ORES N° 92-4046 | | |

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.